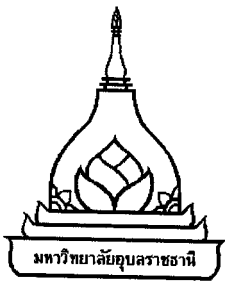


ระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี

หนึ่งฤทัย พรหมวาที

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
พ.ศ. 2549

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ANTIBODY RESPONSE AGAINST NEWCASTLE DISEASE VACCINE IN THAI INDIGENOUS CHICKEN: CHEE

NEUNGRUTAI PROMWATEE

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS

FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE

MAJOR IN AGRICULTURE FACULTY OF AGRICULTURE

UBON RAJATHANEE UNIVERSITY

YEAR 2006

COPYRIGHT OF UBON RAJATHANEE UNIVERSITY

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์

เรื่อง ระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี

ผู้วิจัย หนึ่งฤทัย พรหมวาที

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงไกร โชประการ)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มนต์ชัย ดวงจินดา)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.สมชัย สวาสดิพันธ์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ ดร.กนก ผลารักษ์)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรชัย สุวรรณลี)

..... คณบดี

(รองศาสตราจารย์ ดร.วัชรพงษ์ วัฒนกูล)

มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี รับรองแล้ว

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุทิศ อินทร์ประสิทธิ์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

ปฏิบัติราชการแทนอธิการบดี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ปีการศึกษา 2549

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงไกร โชประการ ประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งเป็นทั้งอาจารย์ที่ปรึกษา และอาจารย์ประจำวิชาหลายวิชา ที่กรุณาให้ความรู้ทางวิชาการ วิธีการดำเนินการวิจัย การเป็นนักวิจัยที่ดี ตลอดจนให้คำปรึกษาและคำชี้แนะในการแก้ไขปัญหาตลอดระยะเวลาการทำวิจัยด้วยความเอาใจใส่ และเสียสละอย่างมากจนงานวิจัยเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ.ดร.สมชัย สวาสดิพันธ์ กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้ความรู้ทางวิชาการ วิธีดำเนินการวิจัย ตลอดจนข้อเสนอแนะข้อบกพร่อง และข้อผิดพลาด จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มนต์ชัย ดวงจินดา กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้ความรู้ทางวิชาการ การใช้โปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูลในการวิจัย ตลอดจนให้คำปรึกษาในการทำวิจัย และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.กนก ผลารักษ์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ช่วยให้คำปรึกษา และคำชี้แนะในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรชัย สุวรรณลี กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ช่วยให้คำปรึกษา และคำชี้แนะในการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้

ขอกราบขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยที่สนับสนุนเงินทุนในการทำวิจัยในครั้งนี้ ตลอดจนขอกราบขอบพระคุณคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิ ชุดโครงการ การสนับสนุนการวิจัย และพัฒนานักวิจัยด้านการปรับปรุงพันธุ์สัตว์ปีก ที่กรุณาให้ความรู้ทางวิชาการ วิธีดำเนินการวิจัย ตลอดจนข้อเสนอแนะต่างๆ ที่ทำให้งานวิจัยในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ กรมปศุสัตว์ จังหวัดขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์สัตว์ทดลอง สถานที่ และอุปกรณ์ในการทำวิจัย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณชูศักดิ์ ประภาสวัสดิ์ นักวิชาการสัตว์ปีก และคุณอรทัย นามบุญลือ เจ้าหน้าที่ประจำฟาร์ม ที่คอยให้คำปรึกษา และให้ความสะดวกในระหว่างการทำวิจัย จนงานวิจัยเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน จังหวัดขอนแก่น ที่กรุณาให้ความอนุเคราะห์ใช้สถานที่วิเคราะห์อีไลซ่า โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณอภิรมย์ เจริญไชย นักวิชาการสัตวแพทย์ และ คุณอัดชา ขันธจันทร์ เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการที่ให้ความสะดวก และคอยให้คำปรึกษาในการทำวิจัยเป็นอย่างดี

สุดท้ายนี้ ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัวของข้าพเจ้าที่สนับสนุนด้านการศึกษาด้วยดีตลอดมา และเป็นกำลังใจที่สำคัญยิ่งจนประสบความสำเร็จในวันนี้

(นางสาวหนึ่งฤทัย พรหมวาที)
ผู้วิจัย

บทคัดย่อ

ชื่อเรื่อง : ระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี

โดย : หนึ่งฤทัย พรหมวาที

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

สาขาวิชา : สัตวศาสตร์

ประธานกรรมการที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงไกร โชประการ

ศัพท์สำคัญ : โรคนิวคาสเซิล ไก่ชี อีไลซ่า ค่าอัตราพันธุกรรม การตอบสนองต่อวัคซีน

ไก่ชีเป็นไก่พื้นเมืองไทยหนึ่งในสี่พันธุ์ คือเหลืองหางขาว ประดู่หางดำ แดง และชี ที่ได้จากโครงการวิจัยการสร้างฝูงต้นพันธุ์ไก่พื้นเมืองที่เริ่มดำเนินการเมื่อปี พ.ศ. 2545 โครงการนี้เป็นการร่วมมือระหว่างสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและกรมปศุสัตว์ ไก่ชีมีขนสีขาวล้วนจึงมีโอกาสสูงที่จะใช้เป็นสายพ่อพันธุ์ในการผลิตไก่เนื้อในระดับอุตสาหกรรม การผลิตไก่เนื้อในระดับอุตสาหกรรมนั้นจำเป็นต้องใช้วัคซีนป้องกันโรคระบาดที่สำคัญ โดยเฉพาะโรคนิวคาสเซิล เนื่องจากเป็นโรคระบาดที่มีความรุนแรงและสร้างความเสียหายเป็นอย่างมาก ดังนั้น เพื่อสร้างความมั่นใจก่อนที่จะนำไปใช้ในวงกว้าง จึงได้ทำการศึกษาในครั้งนี้ขึ้น โดยมีวัตถุประสงค์คือ 1) เปรียบเทียบระดับแอนติบอดีของไก่ชีที่ได้รับและไม่ได้รับวัคซีน 2) รูปแบบการตอบสนองต่อวัคซีน และ 3) ค่าอัตราพันธุกรรมของระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิลในไก่ชี

ทำการทดลอง ณ ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ กรมปศุสัตว์ จังหวัดขอนแก่น ระหว่างเดือนเมษายน ถึงกรกฎาคม พ.ศ. 2549 ในการตอบวัตถุประสงค์ข้อ 1 และ 2 ใช้ลูกไก่ชีคละเพศ อายุ 1 วัน จำนวน 60 ตัว แบ่งเป็นสองกลุ่มๆ ละ 30 ตัว กลุ่มที่หนึ่งได้รับวัคซีนนิวคาสเซิลสเตรนลาโซตา (เชื้อเป็น) ส่วนกลุ่มที่สองไม่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล ทั้งสองกลุ่มได้รับวัคซีนชนิดอื่นๆ ตามโปรแกรมของกรมปศุสัตว์ และวัดระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิลด้วยวิธี Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) ที่อายุ 1, 3, 4, 5, 7 และ 16 สัปดาห์ เนื่องจากวิธี ELISA เป็นวิธีที่มีความเฉพาะเจาะจง และมีความไวในการทำปฏิกิริยาสูง และในการตอบวัตถุประสงค์ข้อที่ 3 ใช้ไก่ชีคละเพศ อายุ 1 วัน จำนวน 475 ตัว โดยให้ได้รับวัคซีนเช่นเดียวกับกลุ่มที่หนึ่งข้างต้น และวัดระดับแอนติบอดีที่อายุ 7 สัปดาห์

ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า ไก่ชีกลุ่มที่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิลสามารถสร้างภูมิคุ้มกันโรคได้ดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนอย่างชัดเจน ($P<0.01$) คือมีค่า LOG_{10}TITER ของระดับแอนติบอดีระหว่างอายุ 3-16 สัปดาห์ สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน 1.3-5.9 เท่า และที่อายุ 3, 4, 5, 7 และ 16 สัปดาห์ มีค่า LOG_{10}TITER สูงกว่าระดับต่ำสุดที่สามารถป้องกันโรคได้ (cut off value) เท่ากับ 46.7, 86.7, 86.7, 86.7 และ 60.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนในช่วงอายุ 3-5 สัปดาห์ มีค่า LOG_{10}TITER ต่ำกว่าค่า cut off value ทั้งสิ้น และแม้ว่าที่อายุ 7 และ 16 สัปดาห์ จะมีค่า LOG_{10}TITER สูงกว่าค่า cut off value แต่เป็นเพียงส่วนน้อย คือ 20 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ส่วนรูปแบบการตอบสนองต่อวัคซีนในช่วงอายุ 1-16 สัปดาห์เป็นไปตามทฤษฎีการตอบสนองด้านภูมิคุ้มกันแบบปฐมภูมิ และทุติยภูมิ สำหรับการปรับปรุงพันธุ์เพื่อสร้างภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิลในไก่ชีนั้นมีความเป็นไปได้น้อยมาก เพราะมีค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะนี้ต่ำ และ มีค่า standard error สูง คือ 0.02±0.05 ดังนั้น ควรที่จะเน้นด้านการจัดการสภาพแวดล้อมมากกว่าการปรับปรุงพันธุ์

ABTRACT

TITLE : ANTIBODY RESPONSE AGAINST NEWCASTLE DISEASE VACCINE IN THAI INDIGENOUS CHICKEN: CHEE

BY : NEUNGRUTAI PROMWATEE

DEGREE : MASTER OF SCIENCE (AGRICULTURE)

MAJOR : ANIMAL SCIENCE

CHAIR : ASSOC.PROF. KREINGKRAI CHOPRAKARN, Ph.D.

KEYWORDS : NEWCASTLE DISEASE / CHEE / ELISA / HERITABILITY / VACCINE RESPONSE

Chee is one of the four major breeds of Thai indigenous chicken, which are Leung Hangkao, Pradu Hangdum, Dang and Chee. They are the result of Thai indigenous chicken foundation stock project, conducted by the Thailand Research Fund in co-operation with the Department of Livestock Development (DLD) since 2002. Chee has white plumage, which is an important characteristic in male line broiler industry. Vaccination is essential for broiler industry, Newcastle Disease Vaccine (NDV) is very important because Newcastle disease is one of the major infectious diseases that cause serious economic loss. The objectives of this study were 1) to compare the antibody response against NDV in vaccinated and unvaccinated chicken, 2) to identify the pattern of antibody response against NDV in the two groups and 3) to estimate heritability of antibody response against NDV in Chee chicken.

The experiments were performed at Tapra Livestock Breeding and Research Center, Khon Kaen province, from April to July 2006. Sixty chicks, one day old, were used to obtain objective 1 and 2. They were divided into two groups of thirty. Group 1 chicken were vaccinated with NDV (attenuated Lasota strain) and the other was unvaccinated. Both groups were vaccinated with other important vaccines according to DLD vaccination program. Blood samples were collected at 1, 3, 4, 5, 7 and 16 weeks of age, the antibody response was determined by the Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) technique because ELISA has high specificity

and high sensitivity. To determine heritability, another 475, one day old chicks were vaccinated in the same way as group 1. The antibody response was measured at 7 weeks of age.

The results indicated that vaccinated group had 1.3 to 5.9 folds, significantly higher antibody response than unvaccinated group ($P<0.01$). Vaccinated group at 3, 4, 5, 7 and 16 weeks of age resulted in protection of Newcastle disease, indicated by the provided cut off value, by 46.7, 86.7, 86.7, 86.7 and 60.0 percent respectively. On the other hand, unvaccinated group at 3 to 5 weeks of age did not show immune response. However, 20 percent of the unvaccinated group at 7 and 16 weeks of age showed the increase of serum titer over the cut off value. The patterns of antibody response to vaccine of vaccinated group from 1 to 16 weeks of age fitted to the primary and secondary immune response theory. The improvement for the immune response trait would be slow due to low heritability (0.02) and high standard error (0.05). Therefore, improvement of NDV prevention and control should be done by improving management rather than using selection method.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	**ก**
บทคัดย่อภาษาไทย	**ค**
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	**จ**
สารบัญ	**ช**
สารบัญตาราง	**ญ**
สารบัญภาพ	**ฎ**
บทที่	
1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญในการทำวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 สมมติฐานการวิจัย	2
1.4 ขอบเขตของการวิจัย	2
1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	2
2 การตรวจเอกสาร	
2.1 ลักษณะทั่วไปของไก่ชี	3
2.2 ความสำคัญของโรคนิวคาสเซิล	5
2.2.1 ชนิดความรุนแรงของเชื้อ	6
2.2.2 อาการ	7
2.2.3 วิการของโรคนิวคาสเซิล	7
2.2.3.1 วิการจากการผ่าซาก	7
2.2.3.2 วิการทางจุลพยาธิวิทยา	7
2.2.4 การป้องกันและรักษา	8
2.3 ระบบภูมิคุ้มกันและการตอบสนองต่อเชื้อโรค	8
2.3.1 ภูมิคุ้มกันแบบไม่เฉพาะเจาะจงที่มีโดยธรรมชาติ	10
2.3.2 ภูมิคุ้มกันแบบเฉพาะเจาะจง	11
2.3.3 การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำ	11
2.3.4 การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์	12

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4 การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิล	14
2.4.1 การตอบสนองปฐมภูมิ	16
2.4.2 การตอบสนองทุติยภูมิ	16
2.5 วัคซีน และการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล	17
2.5.1 วัคซีนเชื้อตาย	17
2.5.2 วัคซีนเชื้อเป็น	18
2.5.3 ข้อดีและข้อเสียของการใช้วัคซีนเชื้อเป็นและเชื้อตาย	18
2.6 ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการสร้างภูมิคุ้มกัน	21
2.7 อัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันโรค	23
3 วิธีดำเนินการวิจัย	
3.1 สัตว์ทดลอง	27
3.1.1 การศึกษาการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล	27
3.1.2 การศึกษาหาค่าอัตราพันธุกรรม	27
3.2 การให้วัคซีน	27
3.2.1 การศึกษาการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล	27
3.2.2 การศึกษาหาค่าอัตราพันธุกรรม	27
3.3 การเก็บตัวอย่าง	28
3.3.1 การศึกษาการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล	28
3.3.2 การศึกษาหาค่าอัตราพันธุกรรม	29
3.4 การตรวจหาแอนติบอดีต่อโรคนิวคาสเซิลด้วยวิธี ELISA	29
3.4.1 ขั้นตอนการเตรียมการวิเคราะห์ ELISA	30
3.4.1.1 การเตรียมสารละลาย	30
3.4.1.2 การเตรียมซีรั่มตัวอย่าง และซีรั่ม Negative control	30
3.4.1.3 การเตรียมซีรั่ม Positive control	30
3.4.2 วิธีการวิเคราะห์ ELISA	31

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.4.3 การคำนวณหาค่าการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อโรคนิวคาสเซิล	31
3.4.4 การแปลผลการทดลอง	32
3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล	32
3.5.1 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับไตเตอร์กลุ่มที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล	32
3.5.2 การหาค่าอัตราพันธุกรรม	32
4 ผลการศึกษา	
4.1 ระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ลาโซตา อายุ 1-16 สัปดาห์	35
4.2 รูปแบบการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิลของไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี อายุ 1-16 สัปดาห์	36
4.3 อัตราพันธุกรรมของการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ลาโซตา	38
5 อภิปรายผลการทดลอง	
5.1 ระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ลาโซตา อายุ 1-16 สัปดาห์	39
5.2 รูปแบบการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิลของไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี อายุ 1-16 สัปดาห์	40
5.3 อัตราพันธุกรรมของการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ลาโซตา	41
6 สรุปและข้อเสนอแนะ	**43**
เอกสารอ้างอิง	**44**
ภาคผนวก	**52**
ประวัติผู้วิจัย	**61**

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลในไก่พันธุ์ต่างๆ	19
2	ค่าอัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิล	25
3	โปรแกรมวัคซีนป้องกันโรคระบาดในไก่พื้นเมือง ที่ใช้ในศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ กรมปศุสัตว์ จังหวัดขอนแก่น	28
4	ค่า LOG_{10}TITER ของไก่ชีกลุ่มที่ไม่ได้รับและได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา ที่อายุ1, 3, 4, 5, 7 และ 16 สัปดาห์	35
5	เปอร์เซ็นต์ไตเตอร์ในระดับที่ให้ผลบวก (LOG_{10}TITER = 2.53) ของไก่ชีกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน และได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา ที่อายุ 1, 3, 4, 5, 7 และ 16 สัปดาห์	36
6	ค่าอัตราพันธุกรรมของไก่ชีที่ตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา ที่อายุ 7 สัปดาห์	38

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ไก่ชีเพศผู้ และเพศเมีย ตามอุดมทัศนีย์	3
2	ไก่ชีเพศผู้ และเพศเมีย ที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ จังหวัดขอนแก่น	4
3	Primary และ Secondary lymphoid tissue ในสัตว์ปีก	9
4	การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อสิ่งแปลกปลอม	13
5	การสร้างแอนติบอดีเพื่อตอบสนองต่อการกระตุ้นของแอนติเจน	15
6	ระดับแอนติบอดีของไก่กลุ่มที่ได้รับ และไม่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล (V_4HR-ND)	15
7	ลักษณะของ ELISA plate	30
8	รูปแบบการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล ลาโซตาของไก่ชีกลุ่มที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน	37
9	ความสัมพันธ์ระหว่างอายุกับค่า LOG_{10}TITER ของไก่ชีกลุ่มที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล ลาโซตา ช่วงอายุ 1–16 สัปดาห์	37
10	หน้าแรกของโปรแกรม BLUPF90 - ChickenPAK 2.5	53
11	การเลือกคำสั่ง Directory และคำสั่งย่อย Setup Directory	53
12	Setup directory	53
13	การเลือกคำสั่ง BLUP และคำสั่งย่อย single trait	54
14	กล่องข้อความ ChickenPacek Wizard…Step 1 of 5	54
15	กล่องข้อความ ChickenPacek Wizard…Step 2 of 5	54
16	กล่องข้อความ ChickenPacek Wizard…Step 3 of 5	55
17	กล่องข้อความ ChickenPacek Wizard…Step 4 of 5	55
18	กล่องข้อความ ChickenPacek Wizard…Step 5 of 5	55
19	กล่องข้อความ BLUPF90	56
20	กล่องข้อความ ChickenPack Wizard…Finish	56
21	ผลการประเมินค่าอัตราพันธุกรรม	57

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญในการทำวิจัย

การผลิตไก่ลูกผสมพื้นเมืองในระดับอุตสาหกรรมมีความเป็นไปได้สูงเพราะในปัจจุบันกำลังได้รับความนิยมจากผู้บริโภค เนื่องจากเนื้อมีปริมาณไขมันต่ำ ไม่ยุ่ยเกินไป และรสชาติอร่อย (เกรียงไกร และคณะ, 2543) ด้วยเหตุผลดังกล่าว สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย และกรมปศุสัตว์ได้ร่วมมือกันสร้างฝูงพันธุ์ไก่พื้นเมืองขึ้น 4 พันธุ์ คือ เหลืองหางขาว ประดู่หางดำ แดง และชี เมื่อเดือนตุลาคม 2545 เพื่อเป็นฝูงต้นพันธุ์สำหรับเกษตรกรและภาคอุตสาหกรรม (อุดมศรี และคณะ, 2549)

ไก่ชีมีข้อเด่นที่จะใช้เป็นสายพ่อพันธุ์ในการผลิตไก่ลูกผสมพื้นเมืองในเชิงอุตสาหกรรมได้ แม้ว่าผลผลิตจะด้อยกว่าไก่อีก 3 พันธุ์ ก็ตาม เพราะไก่ชีมีขนสีขาวเหมือนไก่เนื้อ (broiler) ทำให้ไม่มีปัญหาเรื่องขนหมุด (pin feather) สีดำติดตามผิวหนังหลังถอนขนแล้ว

โรคนิวคาสเซิลเป็นโรคระบาดที่มีความรุนแรง และทำความเสียหายให้กับไก่ทุกช่วงอายุเป็นอย่างมาก (Hassan *et al.*, 2004 ; Hassanzadeh and Bozorgmeri, 2004 ; Spradbrow, 2004 ; Vui, *et al.*, 2002 ; Rahman, *et al.*, 2002 ; เชิดชัย และคณะ, 2524 ; เชิดชัย และคณะ, 2530) ดังนั้นเพื่อสร้างความมั่นใจให้กับภาคอุตสาหกรรมก่อนที่จะนำไก่ชีไปใช้ในการผลิตจึงควรที่จะมีการศึกษาถึง ระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล โดยเฉพาะ สเตรน ลาโซตา ที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ในไก่ชีว่ามีการตอบสนองต่อวัคซีนได้ดีเพียงใด ทั้งนี้เนื่องจากมีรายงานวิจัยพบว่าเมื่อให้วัคซีนกับไก่แล้วปรากฏว่า ยังมีไก่ตายเนื่องจากโรคนิวคาสเซิลอยู่ (เชิดชัย, 2526) แสดงว่ามีไก่บางส่วนที่ไม่มีการตอบสนอง หรือมีการตอบสนองที่ไม่ดีต่อการสร้างภูมิคุ้มกันโรคเมื่อได้รับวัคซีน (จำเรียงและสุนีจิต, 2540 ; Halvorson *et al.*, 1991) และไก่พันธุ์เดียวกันยังมีการตอบสนองต่อวัคซีนได้ไม่เท่ากัน (Gyles *et al.*, 1986) นอกจากนี้ควรทราบถึงอิทธิพลของพันธุกรรมที่มีต่อการสร้างภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีนในไก่ชีว่ามีสัดส่วนเท่าใด เนื่องจากการตอบสนองต่อวัคซีนนั้นถูกควบคุมด้วยพันธุกรรม (Peleg *et al.*, 1976 อ้างมาจาก จารึก, 2534) เพื่อที่จะได้ข้อมูลพื้นฐานที่เป็นประโยชน์ในทางวิทยาศาสตร์ของไก่ชี ภายใต้สภาพการเลี้ยงดูของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ จังหวัดขอนแก่น เพื่อเป็นแนวทางในการวางแผนพัฒนาการปรับปรุงและคัดเลือกพันธุ์ไก่ชี เพื่อให้มีการตอบสนองต่อวัคซีนให้ดียิ่งขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อเปรียบเทียบระดับแอนติบอดีของไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี ที่ได้รับและไม่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา ที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์

1.2.2 เพื่อให้ได้รูปแบบของการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา ที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี

1.2.3 เพื่อให้ได้ค่าอัตราพันธุกรรมของระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา ที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ ในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี ที่เลี้ยงในศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ จังหวัดขอนแก่น

1.3 สมมติฐานการวิจัย

1.3.1 การให้วัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา ทำให้ไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชีมีการสร้างแอนติบอดีเพิ่มสูงขึ้นมากกว่าไม่มีการให้วัคซีน

1.3.2 รูปแบบการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา ของไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี เป็นไปตามทฤษฎีการตอบสนองแบบปฐมภูมิ และทุติยภูมิ

1.3.3 ไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชีมีค่าอัตราพันธุกรรมในด้านการสร้างแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อการให้วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลในระดับต่ำ

1.4 ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยในครั้งนี้ได้มุ่งเน้นการศึกษาการสร้างภูมิคุ้มกันและอัตราพันธุกรรมในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี ภายใต้สภาวะการเลี้ยงดู ภายในศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ จังหวัดขอนแก่น ในปี พ.ศ. 2549

1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ใช้เป็นข้อมูลประกอบการตัดสินใจในการปรับปรุงพันธุ์ไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชีให้มีการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลสูงขึ้น

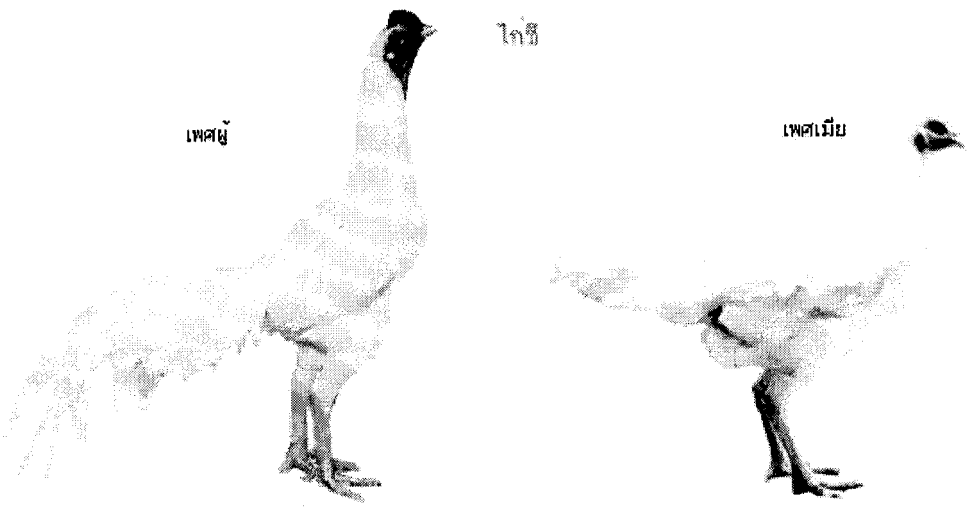
1.5.2 สร้างความมั่นใจในการที่จะนำไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชีไปใช้ในการผลิตในระดับอุตสาหกรรมโดยเฉพาะการสร้างภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

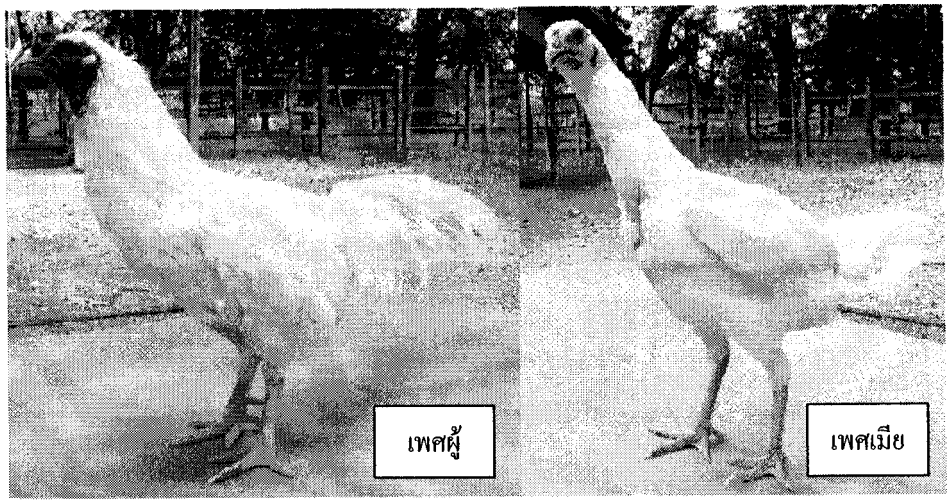
2.1 ลักษณะทั่วไปของไก่ชี

ไก่ชีตามอุดมทัศนีย์เป็นไก่ขนสีขาวปลอดทั้งตัว เข้าใจว่าเกิดจากการกลายพันธุ์จากไก่พื้นเมืองไทยเลาหางขาว แหล่งกำเนิดของไก่ชีพบได้ทั่วไปทั้งบริเวณภาคเหนือตอนล่างแถบจังหวัดพิษณุโลก กำแพงเพชร สุโขทัย ภาคกลาง แถบจังหวัดพระนครศรีอยุธยา อ่างทอง สิงห์บุรี เพชรบุรี และภาคตะวันออกแถบจังหวัดสมุทรปราการ ฉะเชิงเทรา ระยอง และจันทบุรี ไก่ชีเป็นไก่ขนาดกลาง สีของเปลือกไข่จะมีสีขาวนวล ลักษณะโดยทั่วไปของลูกไก่ จะมีสีขน ปาก แข้ง เล็บ มีสีขาวอมเหลือง ลักษณะเด่นประจำพันธุ์ตามอุดมทัศนีย์ของไก่ชีมีดังนี้คือ เพศผู้ มีรูปร่างลักษณะสูงใหญ่สง่างาม ไหล่กว้าง ลำตัวยาวจับ 2 ท่อน อกกว้าง บั้นท้ายกว้าง กระดูกใหญ่ บั้นขายาวแข็งแรง แข้งกลม หางยาว สง่างาม ใบหน้าแหลมเกลี้ยงเกลาและกลมกลึงแบบหน้านกยูง ปากใหญ่ งอุ้ม มีร่องปาก สีขาวอมเหลือง รูจมูกกว้าง สันจมูกเรียบ สีเดียวกับปาก ขอบตารูปตัววี ดวงตาสีเหลืองอ่อน มีหงอนหินสีแดงสด ขนคอขึ้นเป็นระเบียบ สร้อยคอยาวประบ่า ปีกใหญ่ยาวถึงก้น สีขาวตลอด มีสีขนสีขาวตลอดทั้งตัว ส่วนเพศเมียมีลักษณะเช่นเดียวกับไก่ชนเพศเมียทั่วไปแต่มีขนสีขาวตลอดลำตัว ดังแสดงในภาพที่ 1 (สารกิจ, 2546 ; พน, 2542 ; อภิชัย, 2534)



ภาพที่ 1 ไก่ชีเพศผู้ และเพศเมีย ตามอุดมทัศนีย์

ปัจจุบันไก่ชีได้ถูกรวบรวมเพื่อสร้างฝูงพันธุ์ไก่พื้นเมือง อยู่ที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ จังหวัดขอนแก่น และได้คัดเลือกไก่ชีที่มีลักษณะภายนอกให้ตรงกับอุดมทัศนีย์มากที่สุด จนถึงรุ่นที่ 4 พบว่า ไก่ชีที่อายุ 20 สัปดาห์ เพศผู้มีขนลำตัว สร้อยคอ สร้อยหลัง และหางสีขาว เท่ากับ 96.3, 97.3, 97.3 และ 98.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปากและแข้งมีสีเหลือง หรือขาว เท่ากับ 98.6 และ 95.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หน้ามีสีแดงหรือสีชมพู 100 เปอร์เซ็นต์ ผิวหนังมีสีขาว หรือขาวอมเหลือง 100 เปอร์เซ็นต์ และหงอนเป็นหงอนหิน หรือถั่ว 98.5 เปอร์เซ็นต์ จากลักษณะปรากฏภายนอกที่ได้ของไก่พื้นเมืองพันธุ์ชีในเพศผู้และเพศเมีย แสดงให้เห็นว่าการปรับปรุงไก่พื้นเมืองพันธุ์ชี เพื่อให้ได้พันธุ์ไก่พื้นเมืองพันธุ์ชีตามอุดมทัศนีย์นั้น ในรุ่นที่ 4 ถือว่ามีความใกล้เคียงกับอุดมทัศนีย์ เกือบทุกลักษณะทั้งในเพศผู้และเพศเมีย ดังแสดงในภาพที่ 2 ยกเว้นลักษณะสีแข้งในเพศเมียยังแปรปรวนอยู่



ภาพที่ 2 ไก่ชีเพศผู้ และเพศเมีย ที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ จังหวัดขอนแก่น

ลักษณะการเจริญเติบโต ในเพศผู้น้ำหนักแรกเกิด เท่ากับ 31.8 ± 3.8 กรัม ที่อายุ 4, 8, 12, 16 และ 20 สัปดาห์ มีน้ำหนักตัวเท่ากับ 49.5±8.7, 212.6±43.6, 534.8±90.5, 1,081.4±138 และ 1,324±170.3 กรัม ตามลำดับ และในเพศเมีย น้ำหนักแรกเกิด เท่ากับ 31.5±3.4 กรัม ที่อายุ 4, 8, 12, 16 และ 20 สัปดาห์ มีน้ำหนักตัวเท่ากับ 48.5±9.7, 196.4±43.5, 524±91.9, 920±124 และ 1,063±138 กรัม ตามลำดับ ลักษณะด้านการให้ผลผลิตไข่มีอายุเมื่อให้ไข่ฟองแรก 221.9±26.6 วัน น้ำหนักตัวเมื่อให้ไข่ฟองแรก 1,390±192 กรัม น้ำหนักไข่ฟองแรก 40.59±5.4 กรัม ผลผลิตไข่ 6 เดือน 43±24 ฟอง (อุดมศรี และคณะ, 2549)

2.2 ความสำคัญของโรคนิวคาสเซิล

โรคนิวคาสเซิลพบระบาดในสัตว์ปีกเป็นครั้งแรกที่เมืองจาวา ประเทศอินโดนีเซีย เมื่อปี 1926 และเมืองนิวคาสเซิล ประเทศอังกฤษ เมื่อปี 1927 (Alexander *et al.*, 2004) และเรียกโรคระบาดนั้นตามชื่อเมืองนิวคาสเซิล หลังจากนั้นได้มีการรายงานการระบาดของโรคนี้ในประเทศต่างๆ เกือบทั่วโลก ส่วนมากพบว่าเกิดการระบาดอย่างมากในชนบท (Alexander, 2001) เชื้อไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคมีความรุนแรงต่างๆ กันตามชนิดของสายพันธุ์ เชื้อชนิดที่ไม่รุนแรง รุนแรงน้อย หรือรุนแรงปานกลางถูกนำมาใช้เป็นวัคซีนป้องกันโรค โรคนี้มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจการเลี้ยงไก่อย่างมากทั้งทางตรงและทางอ้อม การสูญเสียทางตรงเห็นได้ชัดเจนจากลักษณะความรุนแรงของโรคที่ทำให้ไก่ป่วยตาย ผลผลิตไข่และเนื้อลดลง แต่การสูญเสียทางอ้อมเช่น ค่าใช้จ่ายจากการใช้วัคซีน การควบคุมโรค และที่สำคัญโรคนี้มีผลต่อการค้าขายระหว่างประเทศ ทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจอย่างมาก โดยเฉพาะต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ปีกเพื่อส่งออกผลิตภัณฑ์ มาตรฐานของห้องปฏิบัติการชันสูตรโรคมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการค้าระหว่างประเทศ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นที่จะต้องกำหนดมาตรฐานการชันสูตรโรคนิวคาสเซิลให้เป็นไปตามมาตรฐานสากล โดยวิธีแยกเชื้อ พิสูจน์เชื้อ และตรวจสอบความรุนแรงของเชื้อที่แยกได้ (OIE, 1996)

โรคนิวคาสเซิล เป็นโรคระบาดของสัตว์ปีกที่ร้ายแรงที่สุด มีระบาดทั่วไป ถ้าเกิดขึ้นในฝูงใดมักจะทำให้ตายหมดเล้า จะแสดงอาการป่วยหลังได้รับเชื้อโรคเป็นเวลา 3-6 วัน ไก่ที่กำลังไข่จะหยุดไข่ทันที และมักตายภายใน 1 อาทิตย์ ไก่ที่หายจากโรคนี้มักจะพิการ คอบิด ขาและปีกใช้งานได้ไม่ดี และจะเป็นตัวอมโรค (carrier) ต่อไป (Naila *et al.*, 2001 ; Seal *et al.*, 1999) ในไก่เล็กที่เป็นโรคนี้ จะมีวิการทางระบบหายใจอย่างรุนแรง ระยะพักเชื้อประมาณ 2 – 15 วัน (เฉลี่ย 6 วัน) และจะแสดงวิการประมาณ 10 – 14 วัน การตายสูงมากในช่วง 2-3 วันแรก โดยอาจตายหมดเล้าได้ ในไก่ใหญ่ วิการเหมือนไก่เล็ก แต่อัตราการตายต่ำกว่า โดยพบเปอร์เซ็นต์การไข่ และอัตราการไข่ด้อยลงมาก (สุชน, 2542) ส่วนการติดเชื้อตามธรรมชาติเชื้อจะใช้เวลาพักตัวนาน 2-15 วัน หรืออาจจะรวดเร็ว 2-6 วันไก่จะแสดงอาการ (OIE, 2005) อาการและพยาธิสภาพของโรคมีความหลากหลายขึ้นอยู่กับชนิด ความรุนแรงของเชื้อ อายุของสัตว์ที่ติดเชื้อ ระดับภูมิคุ้มของสัตว์ที่ติดเชื้อ ชนิดของสัตว์ ทางที่สัตว์ได้รับเชื้อ ปริมาณของเชื้อและระยะเวลาที่ได้รับเชื้อรวมถึงปัจจัยภายนอกต่างๆ โดยเชื้อนิวคาสเซิลจะเพิ่มจำนวนเซลล์เยื่อบุตา เยื่อบุทางเดินหายใจ หรือทางเดินอาหาร ซึ่งเป็นตำแหน่งที่สัตว์ได้รับเชื้อหลังจากนั้นเชื้อจะเข้าสู่กระแสเลือด ไปเพิ่มจำนวนที่อวัยวะต่างๆ ทั่วร่างกาย (เกรียงศักดิ์, 2536) การติดต่อของโรคเป็นไปรวดเร็วมาก ติดต่อกันโดยตรงในไก่ป่วยที่อยู่ใกล้ชิดกัน การกินน้ำและอาหารร่วมกัน ติดไปกับอุปกรณ์การเลี้ยงไก่ คนและสัตว์เลี้ยง เช่น สุนัข แมว ตลอดจนนก หนู และแมลงวัน ก็เป็นตัวนำโรคได้ จากการชำแหละไก่ที่ป่วยและตายด้วยโรคนี้ ซึ่งในซาก

ไก่จะมีเชื้อโรคอยู่ในปริมาณสูงมากพอที่จะแพร่ระบาดไปยังไก่ตัวอื่นๆ ในเล้าและไก่บริเวณใกล้เคียงได้ (Barman, 2002)

เชื้อไวรัสนิวคาสเซิล (Newcastle disease virus, NDV) เป็น Paramyxovirus (PMV) ในจีนัส *Rubulavirus* ตระกูล Paramyxoviridae เชื้อ PMV ที่แยกได้จากสัตว์ปีกแบ่งตามการตรวจทางซีรั่มวิทยาได้ 9 ชนิด ได้แก่ PMV1- PMV9 เชื้อไวรัสนิวคาสเซิลเป็นชนิด PMV-1 ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางแอนติเจนของเชื้อสายพันธุ์ต่างๆ กัน genome ของเชื้อไวรัสนิวคาสเซิล (NDV หรือ PMV-1) เป็น อาร์เอ็นเอ (RNA) ชนิดสายเดี่ยว ประกอบด้วยยีนส์ 6 ชนิดที่ encode เป็น viral structural proteins 6 ชนิด ได้แก่ Hemagglutinin Neuraminidase (HN), Fusion protein (F), Matrix or Membrane protein (M), Nucleocapsid Protein (NP), Nucleocapsid Associated Protein (NAP or P) และ Large polymerase protein (L) เชื้อ NDV (Paramyxovirus 1 ; PMV-1) มีความทนทานมาก สามารถมีชีวิตอยู่ในพื้นดินได้นานถึง 2 เดือน และอยู่ในซากไก่ได้นาน 1 ปี (สุชน, 2542) แต่ถูกทำลายได้ง่ายด้วย formalin, alcohol, merthiolate สารละลายไขมัน และ lysol ไม่ทนต่อความร้อน สายพันธุ์เชื้อส่วนใหญ่ถูกทำลายที่อุณหภูมิ 60°C นาน 30 นาที เชื้อบางสายพันธุ์มีคุณลักษณะเฉพาะที่ทนต่อความร้อน

2.2.1 ชนิดความรุนแรงของเชื้อ

เชื้อ NDV (PMV-1) แบ่งตามความรุนแรงโดยวิธี mean death time (MDT) ในไข่ฟัก และอาการของโรค เป็น 5 กลุ่ม (Alexander, 2001) ได้แก่

2.2.1.1 Viscerotropic velogenic (Doyle's form หรือ Asiatic NDV) ชนิดรุนแรงสูงมาก ทำให้ไก่ตายอาจถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ระยะฟักตัวของโรคประมาณ 2–4 วัน ในรายรุนแรงมากไก่อาจตายโดยไม่แสดงอาการ อาการที่เฉพาะ คือ หายใจมีเสียงดังครืดคราด หายใจลำบากโดยยืนอ้าปากหายใจ น้ำมูกไหล ท้องร่วงอุจจาระเป็นสีเขียว บางครั้งอาจพบอาการหน้าบวม และรอบตาบวม ทำให้เกิดพยาธิสภาพของอวัยวะภายใน อัตราการตายสูง พบจุดเลือดออกในทางเดินอาหาร

2.2.1.2 Neurotropic velogenic (Beach's form) ชนิดรุนแรงสูงมาก ระยะฟักตัวประมาณ 5 – 6 วัน ไก่ป่วยแสดงอาการของระบบประสาทและระบบทางเดินหายใจ อัตราการตายต่ำ แต่ในไก่ไข่มีผลทำให้การไข่ลดลงมาก

2.2.1.3 Mesogenic (Beaudette's form) ชนิดรุนแรงปานกลาง ทำให้เกิดอาการของระบบทางเดินหายใจ ทำให้ไก่อายุน้อยตายเนื่องจากการติดเชื้อที่ระบบประสาท แต่ไม่ทำให้มีการตายในไก่อายุมาก ในไก่ใหญ่การไข่จะลดลงและกลับคืนเป็นปกติในเวลา 2–3 สัปดาห์ ไวรัสที่ทำให้เกิดโรคนี้บางเสตรนใช้ทำเป็นวัคซีน

2.2.1.4 Lentogenic (Hichner's form) ชนิดรุนแรงน้อย ไก่ที่ติดเชื้อมักไม่แสดงอาการป่วย หรืออาจแสดงอาการของระบบหายใจอย่างอ่อนๆ หรือไม่มีอาการอะไร ในไก่ไข่อาจมีผลทำให้ไข่ลดลงเล็กน้อยหรือไม่มีผลเลย ไวรัสชนิดนี้บางเสตรนใช้ทำเป็นวัคซีน (เชิดชัย, 2529)

2.2.1.5 Asymtomatic enteritis ชนิดรุนแรงน้อย เป็นเชื้อที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร ไม่ทำให้ไก่ที่ติดเชื้อแสดงอาการป่วย (Flensburg, 2001 ; Barman, 2002)

2.2.2 อาการ

อาการของโรคแตกต่างกันไปตามชนิดของสัตว์ปีก อาการที่พบในไก่ได้แก่

2.2.2.1 อาการทั่วไป กินอาหารลดลง ซึม ผอมแห้ง มีการบวมน้ำที่หน้า (โดยเฉพาะที่เนื้อเยื่อรอบๆ ตา) มีรอยห้อเลือดที่ผิวหนัง บางแห่งอาจเป็นจุดเลือดออก (โดยเฉพาะที่หงอน) หรือมีรอยช้ำเลือดและบวมที่เหนียงและหงอน กรณีที่การระบาดเกิดจากเชื้อชนิดรุนแรงมาก ไก่จะตายแบบเฉียบพลันโดยไม่แสดงอาการป่วย

2.2.2.2 อาการของระบบสืบพันธุ์ ให้ไข่ลดลง ขนาดไข่เล็กลง ลักษณะไข่ผิดปกติ เช่น เปลือกไข่ขรุขระ หรือไม่มีเปลือก ไข่ขาวมีคุณภาพต่ำ

2.2.2.3 อาการของระบบหายใจ มีเสียงหายใจครืดคราด ไอ จาม มีน้ำมูก อ้าปากหายใจ หายใจลำบาก

2.2.2.4 อาการของระบบทางเดินอาหาร ท้องเสีย อุจจาระเหลวสีเขียว-เหลือง

2.2.2.5 อาการของระบบประสาท มีหลากหลายได้แก่ หัวสั่น ตัวสั่น กล้ามเนื้อกระตุก คอบิด ชัก อัมพาตของปีกและขา (Adriaan, 2004)

2.2.3 วิการของโรคนิวคาสเซิล

2.2.3.1 วิการจากการผ่าซาก

วิการขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อ (strain) ไวรัส ถ้าเป็นชนิดรุนแรงอวัยวะภายใน (viscerotropic velogenic ND) จะพบจุดเลือดออกที่กระเพาะแท้ (proventiculus) กระเพาะบดผนังลำไส้ และ ซีคอลทอนซิล (cecal tonsil) และ พบจุดเนื้อตายเล็ก ๆ กระจายทั่วไปในอวัยวะ เช่น ตับ ม้าม หัวใจ ชนิดรุนแรงปานกลาง (mesogenic ND) พบเลือดคั่งและเลือดออกในหลอดลม

2.2.3.2 วิการทางจุลพยาธิวิทยา

พบชั้นเยื่อเมือกของทางเดินหายใจส่วนต้นมีเลือดคั่ง บวมน้ำ และพบเซลล์ลิมโฟไซท์ (lymphocytes) และ มาโครฟาจ (macrophages) ในอวัยวะของระบบต่อมน้ำเหลือง เช่น ม้าม ไทมัส เบอร์ซ่า ออฟ ฟ้าบริเซียส (bursa of fabricious) และ มีการงอกขยายของเซลล์เร็คติคูโล ฮิสโตไซท์ (reticulo histiocytic) พบวิการเลือดออก และ เนื้อตาย ในทางเดินลำไส้ ที่สมองพบ

การเสื่อมของเซลล์ประสาท (neuronal degeneration) และ วิการของ เพอริวาสคูล่าร์ คาฟฟิ่ง (perivascular cuffing)

2.2.4 การป้องกันและรักษา

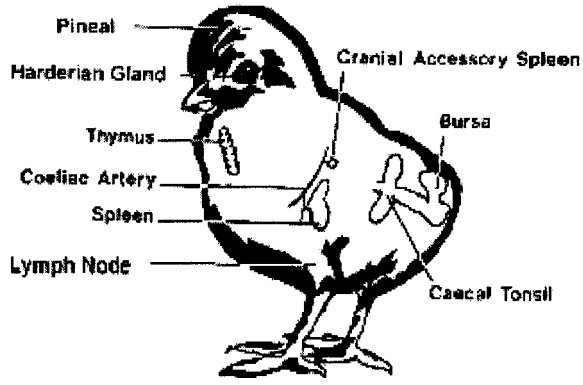
2.2.4.1 การป้องกัน กระทำได้วิธีเดียว คือ การจัดโปรแกรมวัคซีนป้องกันอย่างต่อเนื่อง โอกาสที่เชื้อโรคจะแพร่ระบาดเข้าไปในฝูงไก่จะลดลง

2.2.4.2 การรักษา โรคนี้เมื่อเกิดขึ้นแล้วไม่มีวิธีการรักษาที่ได้ผล มีแต่การทำวัคซีนซ้ำลงไปเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้มีสูงขึ้น ซึ่งจำเป็นอย่างยิ่งต่อฝูงไก่บางส่วนที่ยังติดเชื้อไม่มาก จะช่วยลดอัตราการตายลงได้ (สุชน, 2542) โดยทั่วไปให้ถือเป็นแนวปฏิบัติคือ การเร่งให้ไก่สร้างภูมิคุ้มโรคขึ้นโดยทันที เฉพาะในตัวที่ยังไม่ได้รับเชื้อ หรือที่เรานิยมเรียกกันว่า น็อค (knock) คือการเริ่มทำวัคซีนใหม่ โดยการฉีดหรือการละลายน้ำให้กิน เสตรนที่นิยมใช้จะเป็นเสตรนลาโซตา ผลของการทำวัคซีนสามารถอธิบายได้คือ วัคซีนจะก่อให้เกิดกระบวนการสร้าง interferon ทันทีที่ไก่ได้รับและกระตุ้นให้ไก่สร้างภูมิคุ้มกันได้สูงภายในเวลารวดเร็ว ดังนั้นวิธีการแก้ปัญหาของโรคนี้ โดยวิธีนี้จึงเป็นหลักการที่ถือปฏิบัติและได้ผลตลอดมา (เกรียงศักดิ์, 2536)

2.3 ระบบภูมิคุ้มกันและการตอบสนองต่อเชื้อโรค

ระบบภูมิคุ้มกัน (immune system) คือระบบที่ทำหน้าที่คุ้มกันร่างกายจากสิ่ง แปลกปลอม หรือเชื้อโรค ประกอบด้วยสารน้ำและเซลล์หลายพวกที่ทำหน้าที่ร่วมกัน เซลล์ที่ทำหน้าที่นี้คือ ลิมโฟซัยท์ ฟาโกซัยท์ และพลาสมาเซลล์ โดยปกติเซลล์เหล่านี้จะอยู่ใน lymphoid tissue เลือด น้ำเหลือง และไขกระดูก (bone marrow) ในสัตว์ปีกมีเนื้อเยื่อของระบบน้ำเหลือง (lymphoid tissue) ที่สามารถแยกออกเป็นส่วนไปยังเนื้อเยื่อของระบบน้ำเหลืองหลัก (primary immune tissue) คือ ต่อมไทมัส (thymus gland) และ bursa of fabricius อยู่ที่บริเวณ cloaca ของสัตว์ปีก ไทมัส เป็นอวัยวะส่วนกลางที่ทำให้เกิดการสร้าง T cell (เป็นเซลล์ที่สามารถทำลายเซลล์แปลกปลอมโดยการสร้างและหลั่ง lymphokines ซึ่งมีผลต่อการกระตุ้น phagocytic cell ชนิดต่างๆ โดยเฉพาะ macrophage ให้เข้ามาทำลายเซลล์แปลกปลอม) bursa of fabricius ส่วนที่สร้าง B cell (จะพัฒนาต่อไปเป็น plasma cell ซึ่งทำหน้าที่สร้างและปลดปล่อยแอนติบอดี ที่เป็นโปรตีนจำเพาะต่อสิ่งแปลกปลอม) ในสัตว์ปีกไม่แตกต่างกันกับสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยนมซึ่งมีกระบวนการต่างๆ เกิดขึ้นในไขกระดูก (Ambrosius และ Hadge, 1987) ในสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยนม จะอยู่ที่ ตับ ไขกระดูก ของทารกในครรภ์มารดา และเนื้อเยื่อของระบบน้ำเหลืองรอง (secondary immune tissue) เป็นที่อยู่ของ T lymphocyte และ B lymphocyte ซึ่งประกอบไปด้วย ต่อมน้ำเหลือง ม้าม ตับ ไขกระดูก เป็นต้น (Glick, 2000 ; Sharma และ Schat, 1999) ดังแสดงในภาพที่ 3 นอกจากนี้ระบบภูมิคุ้มกันเป็นระบบทางสรีรวิทยาที่ทำให้

สัตว์หรือมนุษย์มีความจดจำต่อสิ่งแปลกปลอม และสามารถทำให้สิ่งแปลกปลอมนั้นถูกทำให้หมดสภาพลง (neutralization) หรือขับสิ่งแปลกปลอมออก หรือทำลายสิ่งแปลกปลอมนั้นขับออกมา ซึ่งการกระทำนี้อาจจะเกิดหรือไม่เกิดการบาดเจ็บต่อเนื้อเยื่อของตัวเอง (โสมทัต, 2538)



ภาพที่ 3 Primary และ Secondary lymphoid tissue ในสัตว์ปีก (Glick, 2000)

การสร้างภูมิคุ้มกันนั้นเกิดขึ้นเมื่อไก่ได้รับเชื้อโรค หรือเป็นโรคมาแล้วครั้งหนึ่ง จะมีการสร้างสารบางชนิดขึ้นในร่างกาย สารที่สร้างขึ้นนี้เรียกว่า แอนติบอดี มีอำนาจในการต่อต้านเชื้อโรคชนิดเดียวกันที่เข้าไปในร่างกาย ขีดความสามารถในการต่อต้านของไก่แต่ละตัวจะสร้างขึ้นมาไม่เท่ากัน ไก่บางตัวสร้างภูมิคุ้มกันได้มากจนเชื้อโรคไม่สามารถเข้าไปทำอันตรายได้ แต่ไก่บางตัวสร้างภูมิคุ้มกันได้น้อย จนไม่สามารถทนต่อการระบาดของโรคอย่างรุนแรงได้ ดังนั้นระยะเวลาในการสร้างแอนติบอดี จะเร็วหรือช้าขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อโรค ปริมาณของเชื้อ และความสามารถในการสร้างแอนติบอดีของตัวไก่เอง ไก่ที่มีสุขภาพสมบูรณ์จะสร้างแอนติบอดีได้มาก แต่ไก่อยู่ในสภาวะเครียดจะสร้างได้น้อย หากแอนติบอดีมีปริมาณที่พอดีกับเชื้อโรคที่เข้าไป ในร่างกาย ไก่จะสามารถทำลายเชื้อได้หมด แต่ถ้าเชื้อโรคในปริมาณมากร่างกายจะพยายามสร้างแอนติบอดี ออกมาเพื่อทำลายเชื้อโรคให้หมด เชื้อโรคบางสายพันธุ์ (strain) อาจสร้างแอนติบอดีได้ไม่เท่ากัน นอกจากนี้เวลาที่ใช้ในการสร้างแอนติบอดี ก็ขึ้นกับปริมาณของเชื้อโรคที่เข้าไปด้วยเช่นกัน โรคบางชนิดอาจต้องอาศัยเวลาหลายวัน บางชนิดอาจใช้เวลาไม่กี่ชั่วโมงสำหรับการสร้างภูมิคุ้มกัน (สุชน, 2542)

การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน (immune response) เมื่อร่างกายมีการติดเชื้อโรค ร่างกายก็จะสร้างภูมิต้านทานขึ้นมาต่อสู้กับเชื้อโรคที่เข้ามา ซึ่งการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันมี 2 แบบคือ

2.3.1 ภูมิคุ้มกันแบบไม่เฉพาะเจาะจงที่มีโดยธรรมชาติ

ภูมิคุ้มกันแบบไม่เฉพาะเจาะจงที่มีโดยธรรมชาติ (native immunity หรือ natural resistance) ไม่จำเป็นที่ต้องถูกกระตุ้นเป็นพิเศษ มีกำลังทำลายไม่สูง ป้องกันได้กับจุลชีพที่ไม่มีอันตรายมากนัก และกำจัดจุลชีพได้ในปริมาณหนึ่ง เปลี่ยนแปลงไปตามอายุ พันธุกรรม ระดับฮอร์โมน และสภาวะทางโภชนาการของแต่ละคน แบ่งย่อยตามกลไกการทำงานได้ดังนี้

2.3.1.1 การป้องกันทางกายวิภาค (anatomical barrier)

ด่านที่สำคัญคือ ผิวหนัง เชื้อจะถูกกั้นให้อยู่บริเวณด้านนอกของร่างกาย บริเวณผิวหนัง ถ้าอยู่เช่นนั้นไปเรื่อย เชื้อก็จะตาย เพราะอยู่ในสภาพที่แห้งขาดความชุ่มชื้น การหลุดลอกออกของผิวหนัง จะช่วยกำจัดเชื้อที่เกาะอยู่ออกไป เยื่อบุผิว (mucous membrane) จะมีเยื่อเมือกช่วยดักจับจุลินทรีย์ไว้ และลำเลียงต่อขึ้นไปทางหลอดลม หรือโพรงจมูก โดยอาศัยการทำงานของขนเล็ก (cilia) บริเวณทางเดินหายใจ ทำงานคล้ายไม้กวาด ทำให้เชื้อมีการเคลื่อนที่ไปในทางเดียวกันในอัตราความเร็วประมาณ 10-20 มม./นาที ต่อมาจะเกิดอาการไอจาม หรือขับเป็นเสมหะ ทำให้เชื้อหลุดออกไป หรือไม่ก็ถูกกลืนลงไปกระเพาะอาหาร และขับออกกับอุจจาระ

2.3.1.2 สารเคมีในร่างกาย (chemical factor)

สารที่ขับออกมาจากต่อมไขมัน ได้แก่ lactic acid, caproic acid, caprylic acid มีฤทธิ์ต่อต้านแบคทีเรีย กรดไขมันบางชนิดป้องกันเชื้อราได้ (ยกเว้นเชื้อราและแบคทีเรียบางชนิดที่กรดไขมันบางชนิดช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ) normal flora หมายถึง เชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่กับร่างกายตามปกติซึ่งไม่ก่อโรค จะช่วยควบคุมปริมาณซึ่งกันและกันไม่ให้มีการเจริญของเชื้อใดมากเกินไป

2.3.1.3 การกลืนกิน (phagocytosis)

เม็ดเลือดขาว จะทำหน้าที่จับเชื้อจุลินทรีย์กิน เมื่อกินจนเต็มที่แล้วก็จะย่อยสลายตัวเองและเชื้อจุลินทรีย์ให้ตายไปพร้อมๆกันกลายเป็นหนอง

2.3.1.4 ระบบคอมพลีเมนต์ (complement system)

เป็นโปรตีนกลุ่มหนึ่งที่ค้นพบในซีรั่ม ประกอบด้วยโปรตีนมากกว่า 30 ชนิด อยู่ในส่วนโกบุลินของพลาสมา และเป็นโปรตีนของเยื่อหุ้มเซลล์ คอมพลีเมนต์ จะทำหน้าที่ได้เมื่อถูกกระตุ้น ซึ่งเป็นระบบที่ซับซ้อนมาก มีผลทำให้เซลล์ตาย และแตกสลาย (นภาธร, 2543)

2.3.1.5 อินเตอร์เฟอรอน (interferon)

เป็นกลุ่มของโปรตีนเช่นเดียวกัน มีความสำคัญในการขัดขวางการแบ่งตัวของไวรัส จัดเป็นสารที่มีอนาคตทางการแพทย์มากในการรักษาโรคติดเชื้อไวรัส และมะเร็ง แต่ยังต้องค้นคว้าอีกนาน เพื่อลดผลข้างเคียงในการนำมาใช้ทางยา

2.3.2 ภูมิคุ้มกันแบบเฉพาะเจาะจง

ภูมิคุ้มกันแบบเฉพาะเจาะจง (specific acquired immunity) มีอำนาจทำลายสูงและเฉพาะเจาะจงกับเชื้อจุลินทรีย์แต่ละชนิด ตัวอย่างที่เห็นได้ชัดเจนคือ การฉีดวัคซีน ซึ่งจะมีวัคซีนของแต่ละโรค วัคซีนจะไปกระตุ้นให้เกิดการสร้าง แอนติบอดี (antibody) ต่อโรคนั้นๆ และจะถูกจดจำไปตลอดชีวิต เมื่อร่างกายได้รับเชื้อชนิดนั้นๆอีก antibody จะถูกสร้างขึ้นมาอย่างมากมายเพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์ชนิดนั้นอย่างรวดเร็ว การเกิดภูมิคุ้มกันชนิดนี้ อาศัยเซลล์เม็ดเลือดขาวที่เรียกว่า lymphocyte โดย antibody ที่ถูกสร้างขึ้นจะมีความเฉพาะเจาะจงมากต่อเชื้อจุลินทรีย์นั้นๆ ซึ่งสารที่กระตุ้นให้เกิดการสร้างแอนติบอดี เรียกว่า แอนติเจน (antigen) (อุปถัมภ์, 2546)

การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของร่างกายสัตว์ แบ่งได้ 2 ชนิดคือ การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำ (Humoral immune response (HIR)) และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ (Cell-mediated immune response (CMIR))

2.3.3 การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำ

การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำ (Humoral immune response) เนื่องจากภูมิคุ้มกันชนิดนี้พบในส่วนของน้ำเลือดและของเหลวภายนอกเซลล์ เช่น พลาสมา น้ำเหลือง หรือของเหลวในเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำจัดเป็นการตอบสนองของร่างกายต่อสิ่งแปลกปลอมหรือแอนติเจนโดยการสร้างแอนติบอดีหรืออิมมูโน- โกลบุลิน (immunoglobulin) ให้มาจับกับแอนติเจนที่จำเพาะที่กระตุ้นให้มีการสร้างแอนติบอดีนั้นๆ ขึ้นมา กลไกลการตอบสนองโดยวิธีนี้ เริ่มจากแอนติเจนเข้าสู่ร่างกายสัตว์จะไปกระตุ้น B cell ให้มีการพัฒนาไปเป็นเซลล์พลาสมาที่สร้างและหลั่งแอนติบอดีเข้าสู่ของเหลวในร่างกายสัตว์ ซึ่งได้แก่ เลือดและสารคัดหลั่งต่างๆ แล้วแอนติบอดีเหล่านี้จะไปจับกับแอนติเจนที่กระตุ้นให้มีการสร้างแอนติบอดีนั้นๆ ขึ้นมา

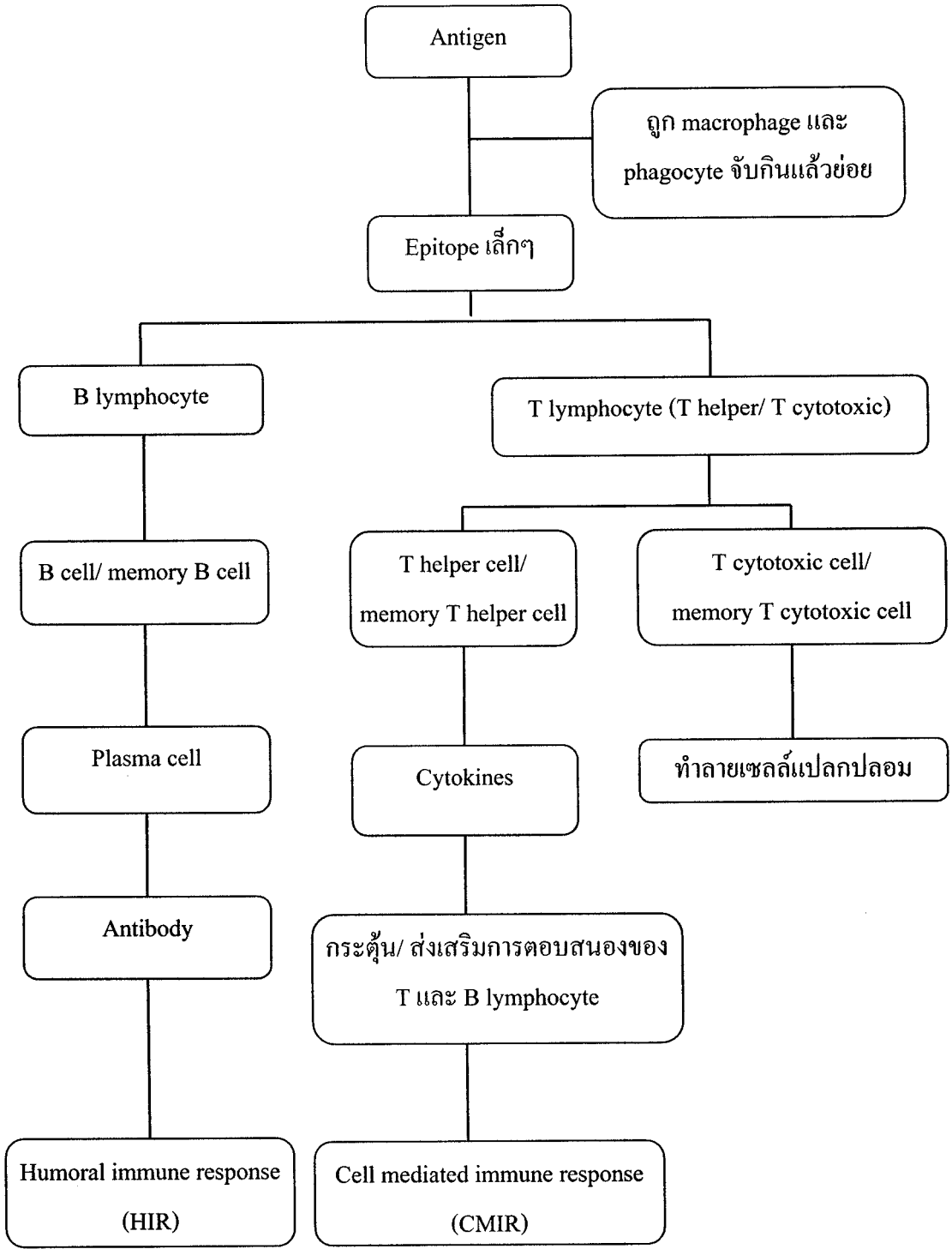
การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำต่อการกระตุ้นของแอนติเจนสามารถวัดได้จากระดับของแอนติบอดีในซีรั่มที่เรียกว่า ไตเตอร์ (titer) คือเมื่อสัตว์ได้รับแอนติเจนเป็นครั้งแรก สัตว์จะตอบสนองโดยการสร้างแอนติบอดีขึ้นมาจับกับแอนติเจนนั้น ถ้าวัดระดับของแอนติบอดีในซีรั่มพบว่ามีระดับไตเตอร์สูงขึ้นเล็กน้อย ซึ่งเป็นการสร้างภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อแอนติเจนในครั้งแรกนี้เรียกว่าการตอบสนองปฐมภูมิ (primary response) การตอบสนองนี้เกิดขึ้นในระยะเวลาสั้นๆ และมีปริมาณแอนติบอดีไม่มากนัก เมื่อเวลาผ่านไประดับแอนติบอดีในซีรั่มจะลดลง เมื่อสัตว์ได้รับแอนติเจนตัวเดิมอีกครั้ง ร่างกายสัตว์จะสามารถตอบสนองต่อแอนติเจนนี้ได้เร็วกว่าในครั้งแรก เนื่องมาจากมี memory cell ในการจดจำลักษณะของแอนติเจนดังกล่าวการตอบสนองครั้งที่สองนี้ร่างกายจะสร้างแอนติบอดีในปริมาณมากกว่าและตอบสนองได้เร็วกว่าการตอบสนองในครั้งแรก

ซึ่งการสร้างแอนติบอดีที่เพิ่มขึ้นในครั้งนี้เรียกว่าการตอบสนองทุติยภูมิ (secondary response) โดยแอนติบอดีที่สร้างขึ้นจะคงอยู่ในร่างกายได้นานกว่าการตอบสนองครั้งแรก การตอบสนองแบบ secondary response นี้จัดเป็นหลักการของการทำวัคซีนป้องกันโรคสัตว์ในปัจจุบัน โดยการให้ร่างกายสัตว์ได้รับแอนติเจนครั้งแรกในปริมาณน้อย เพื่อไปกระตุ้นการสร้างแอนติบอดี เมื่อสัตว์ได้รับแอนติเจนตัวนั้นเป็นครั้งที่สอง จะทำให้สัตว์สร้างภูมิคุ้มกันได้มากและเร็วขึ้น ทำให้สัตว์ที่ได้รับวัคซีนไม่เกิดโรคหรือมีความต้านทานต่อโรคนั้นๆ

2.3.4 การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์

การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ (Cell-mediated immune response) เป็นการตอบสนองของร่างกายต่อสิ่งแปลกปลอม หรือแอนติเจนโดยอาศัย T cell และเซลล์แมคโครฟาจในการทำลายแอนติเจนทั้งแอนติเจนอิสระและเซลล์ของร่างกายที่ติดเชื้อโรค

กลไกการตอบสนองโดยวิธีนี้ เกิดจากการที่แอนติเจนเข้าสู่ร่างกายไปกระตุ้น T cell ให้มีการแบ่งเซลล์และพัฒนาไปเป็น T cell ชนิดไซโททอกซิค (cytotoxic T-cell) แล้ว T cell นี้จะออกจากต่อมน้ำเหลือง ม้ามหรือเนื้อเยื่อน้ำเหลืองของอวัยวะต่างๆ ไปยังเนื้อเยื่อหรือเซลล์ที่มีการติดเชื้อ และจับกับแอนติเจนที่ผิวของเซลล์ที่มีการติดเชื้อ พร้อมกับหลั่งโปรตีนออกมาทำลายเซลล์ที่ติดเชื้อนั้น ดังแสดงในภาพที่ 4 การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ มีความสำคัญในการควบคุมการติดเชื้อที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ของร่างกาย และยังเฝ้าระวังการถูกทำลายโดยเซลล์มะเร็งอีกด้วย ทั้งนี้เนื่องจากแอนติบอดีที่ร่างกายสร้างขึ้นไม่สามารถทำลายการถูกทำลายโดยเซลล์มะเร็ง การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์นี้ จัดเป็นภูมิคุ้มกันที่สามารถถ่ายทอดจากสัตว์ตัวหนึ่งไปยังอีกตัวหนึ่งได้ โดยการนำเซลล์ลิมโฟไซท์ของสัตว์ตัวที่ได้รับแอนติเจน และมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นนี้ไปให้สัตว์อีกตัวที่ยังไม่เคยได้รับแอนติเจนชนิดนี้มาก่อน (พรชุลีย์ และคณะ, 2545)



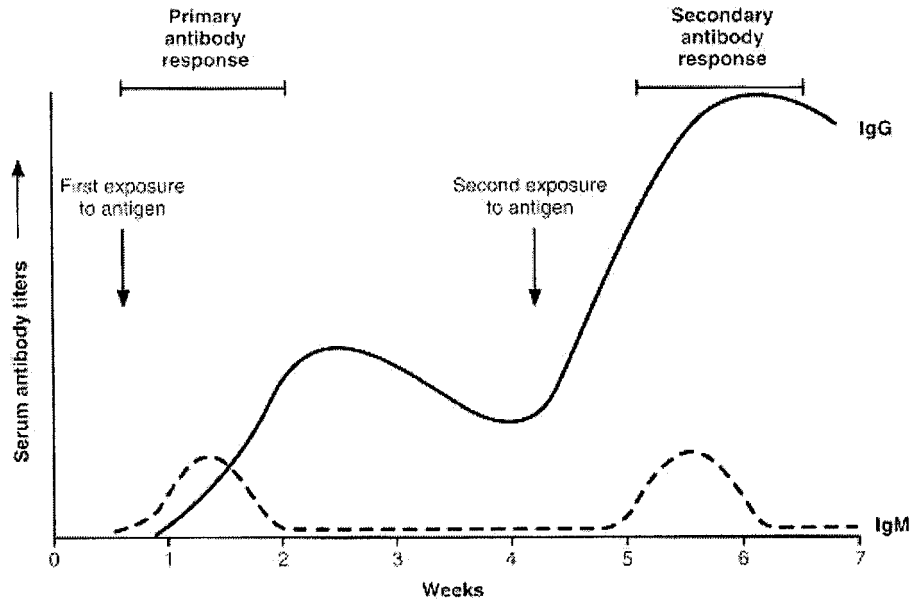
ภาพที่ 4 การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อสิ่งแปลกปลอม (สุทธิพันธ์ และคณะ, 2543)

2.4 การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิล

ระดับภูมิคุ้มกันโรคสามารถตรวจวัดได้จาก แอนติบอดี (antibody) ซึ่งแอนติบอดี คือ สาร glycoprotein ที่ประกอบด้วย polypeptide 82–96 เปอร์เซ็นต์ และคาร์โบไฮเดรต 4–18 เปอร์เซ็นต์ เกิดจากการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันต่อ antigenic determinant (epitope หรือ ตำแหน่งย่อยๆ บนแอนติเจน) ที่แปลกปลอม และจะทำปฏิกิริยาจำเพาะกับ antigenic determinant นั้นเท่านั้น ซึ่งผลจากปฏิกิริยานี้จะกำจัดสารพิษ จุลชีพ ปรสิต และสารแปลกปลอมอื่นๆ ออกจากร่างกายได้ เนื่องจากแอนติบอดีเป็นโกลบุลินที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับภูมิคุ้มกันของร่างกาย จึงเรียกกันว่า อิมมูโนโกลบุลิน (immunoglobulin) หรือ Ig ซึ่งมี 5 ชนิด คือ IgG, IgA, IgM, IgD และ IgE

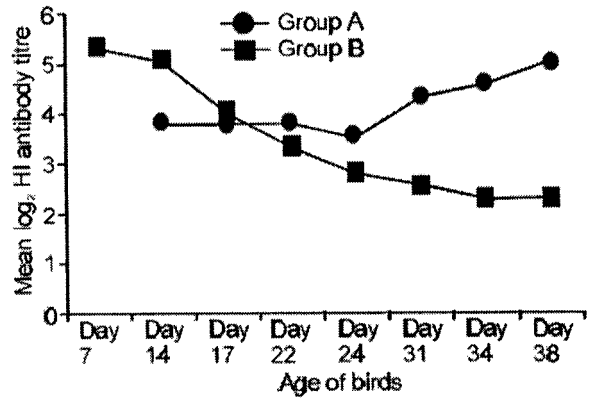
แอนติบอดีหรืออิมมูโนโกลบุลิน เป็นผลผลิตของเซลล์พลาสมา และลิมโฟซัยท์ ไม่เพียงแต่พบในซีรั่มเท่านั้น ยังพบในส่วนน้ำอื่นๆของร่างกาย และในเนื้อเยื่อ เช่น ปัสสาวะ น้ำไขสันหลัง น้ำนม น้ำลาย น้ำตา ต่อมน้ำเหลือ ม้าม และนอกจากนี้ยังพบบนผิวของ B lymphocyte อีกด้วย และการสร้างแอนติบอดีนั้น เกิดจาก B lymphocyte ทุกตัวจะมียีนสำหรับการกำหนดการทำหน้าที่ของมันอยู่แล้วภายในเซลล์ตั้งแต่ยังมิได้พบกับแอนติเจน ยีนดังกล่าวจะกำหนดว่าลิมโฟซัยท์นั้นจะทำหน้าที่ตอบสนองต่อแอนติเจนใด เมื่อมีสารที่เป็นแอนติเจนเข้าสู่ร่างกายจะไปจับกับ B lymphocyte ที่มีความจำเพาะต่อแอนติเจนนั้น B lymphocyte ดังกล่าวจะมีปฏิกิริยาตอบสนองด้วยการแบ่งตัว (proliferation) และการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (differentiation) เกิดเป็นกลุ่ม (clone) ของเซลล์ที่ทำหน้าที่ผลิตแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแอนติเจนนั้นๆ (สุทธิพันธ์ และคณะ, 2543)

การตอบสนองทางด้านภูมิคุ้มกัน คือ เมื่อร่างกายได้รับแอนติเจน จะเกิดการตอบสนองต่อแอนติเจนนั้น วิธีการและประสิทธิภาพของการตอบสนองนี้ขึ้นกับจำนวนครั้งของการได้รับแอนติเจน ถ้าได้รับแอนติเจนเป็นครั้งแรกจะมีการตอบสนองที่แตกต่างไปจากการที่ได้รับแอนติเจนมากกว่าหนึ่งครั้ง ซึ่งการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำต่อการกระตุ้นของแอนติเจน สามารถวัดได้จากระดับของแอนติบอดีในซีรั่มที่เรียกว่า ไตเตอร์ (titer) คือเมื่อสัตว์ได้รับแอนติเจนครั้งแรก สัตว์จะมีการตอบสนองโดยการสร้างแอนติบอดีขึ้นมาจับแอนติเจนนั้น ถ้าวัดระดับของแอนติบอดีในซีรั่มจะพบว่ามีระดับแอนติบอดีหรือไตเตอร์เพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อย เรียกว่าการตอบสนองปฐมภูมิ (primary response) เมื่อสัตว์ได้รับแอนติเจนตัวเดิมอีกครั้ง การตอบสนองครั้งที่สองร่างกายจะสร้างแอนติบอดีได้ปริมาณมากกว่า การสร้างแอนติบอดีในครั้งนี้เรียกว่าการตอบสนองทุติยภูมิ (secondary response) (กฤษณา, 2548) ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 การสร้างแอนติบอดีเพื่อตอบสนองต่อการกระตุ้นของแอนติเจน (Anonymous, 1991)

จากการศึกษาของ Rahman และคณะ (2004) ในไก่เนื้อของประเทศบังคลาเทศ ด้านการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล (V_4HR-ND) พบว่า กลุ่มที่ได้รับวัคซีน (group A) มีการตอบสนองต่อวัคซีนทำให้มีระดับแอนติบอดีไตเตอร์สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน (group B) ดังแสดงในภาพที่ 6 หลังจากตรวจวัดระดับการตอบสนองต่อวัคซีนแล้ว ได้ฉีดเชื้อพิษนิวคาสเซิลเพื่อตรวจสอบความต้านทานต่อโรคของไก่ทั้งสองกลุ่ม พบว่า กลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีอัตราการตาย 40 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนมีอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการให้วัคซีนช่วยให้ไก่เนื้อกลุ่มนี้สามารถป้องกันโรคได้ 60 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 6 ระดับแอนติบอดีของไก่กลุ่มที่ได้รับและไม่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล (V_4HR-ND)

Tran Dinh Tu (2000) ได้ศึกษาการใช้วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลในชนบทของประเทศเวียดนาม ผลการใช้วัคซีนพบว่า ไก่ที่ได้รับวัคซีนมีระดับแอนติบอดีไตเตอร์สูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน 2–5 เท่า และเมื่อทดสอบความต้านทานโรคนิวคาสเซิล พบว่าไก่มีระดับที่สามารถป้องกันโรคได้อยู่ระหว่าง 45.6–96 เปอร์เซ็นต์ และ Muhammad และคณะ (2006) ได้ศึกษาการตอบสนองภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำ (humoral immune response) จากการให้วัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา ในไก่เนื้อ พบว่า กลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน มีระดับแอนติบอดีไตเตอร์ต่ำที่สุด เท่ากับ 3.99 ส่วนกลุ่มที่ได้รับวัคซีนหนึ่งครั้ง มีค่าเท่ากับ 13.93 และกลุ่มสุดท้ายคือกลุ่มที่ได้รับวัคซีนกระตุ้นซ้ำครั้งที่สองมีค่าเท่ากับ 56.7 ดังนั้นการให้วัคซีนช่วยกระตุ้นให้ไก่สร้างภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำได้ และการกระตุ้นวัคซีนซ้ำช่วยให้ไก่มีการสร้างแอนติบอดีได้เพิ่มสูงขึ้นกว่ามีการให้วัคซีนเพียงครั้งเดียว

2.4.1 การตอบสนองปฐมภูมิ

เป็นการตอบสนองต่อการได้รับแอนติเจนเป็นครั้งแรกของร่างกาย โดยหลังจากได้รับแอนติเจนแล้วจะพบว่า มีช่วงระยะเวลาหนึ่งที่ยังไม่สามารถตรวจพบแอนติบอดีในกระแสเลือดได้ ระยะนี้เรียกว่า latent phase ซึ่งเป็นระยะที่ระบบการสร้างภูมิคุ้มกันเริ่มรู้จักกับแอนติเจน และเริ่มสร้างแอนติบอดีออกมาสู่กระแสโลหิต ช่วงเวลาของระยะนี้ไม่แน่นอน (ประมาณ 2-3 วัน หรือมากกว่า) ต่อมาจะเข้าสู่ logarithmic phase ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่พบปริมาณแอนติบอดีสูงมากและเกิดขึ้นรวดเร็ว ระยะนี้เป็นระยะที่มีการสร้างแอนติบอดีออกมามากที่สุด ช่วงระยะเวลานั้นไม่แน่นอนขึ้นกับปริมาณของแอนติเจนที่ได้รับ (โดยเฉลี่ยประมาณ 5-10 วัน) ระยะต่อมาเรียกว่า plateau หรือ steady state เป็นระยะที่มีปริมาณของแอนติบอดีคงที่ พบนานประมาณ 1-3 วัน หลังจากนั้นก็จะเข้าสู่ระยะสุดท้ายคือ decline phase เป็นระยะที่ปริมาณแอนติบอดีลดลง อาจจะต่ำจนไม่สามารถวัดหาปริมาณได้

แอนติบอดีที่เกิดขึ้นจะมีปริมาณน้อยกว่าการตอบสนองครั้งที่สองมาก และพบแอนติบอดีชนิด IgM ในปริมาณสูงก่อนแล้วค่อยลดลง ส่วนระดับ IgG เพิ่มขึ้นหลังจากที่ IgM ลดลงแล้ว ในด้านของการตอบสนองภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ พบว่ามีการโต้ตอบต่อการได้รับแอนติเจนเป็นครั้งแรกได้ช้าและไม่มีประสิทธิภาพที่ดีเช่นเดียวกับการสร้างแอนติบอดี

2.4.2 การตอบสนองทุติยภูมิ

ถ้าร่างกายได้รับการกระตุ้นซ้ำ (boost) จากแอนติเจนที่เคยได้รับมาก่อนแล้ว อาจจะเป็นช่วงที่ห่างจากครั้งแรกนานเป็นสัปดาห์ เดือน หรือปี ก็จะมีการตอบสนองของร่างกายด้วยวิธีการเดียวกับครั้งแรกและการตอบสนองนี้เกิดขึ้นได้รวดเร็ว และมีประสิทธิภาพสูงกว่าครั้งแรกมาก ทั้งนี้เนื่องจากมี memory B cell และ memory T cell ที่จะรับกับแอนติเจนอยู่แล้ว ลักษณะสำคัญของการตอบสนองชนิดนี้ก็จะได้แก่ระยะ latent phase ที่สั้นมาก ปริมาณของแอนติบอดีที่เกิดขึ้นพบมาก

กว่าและคงอยู่ได้นานกว่าการตอบโต้ครั้งแรก แอนติบอดีที่พบส่วนมากเป็น IgG และปริมาณของแอนติเจนที่ใช้กระตุ้นก็สามารถให้ในปริมาณที่น้อยกว่าการกระตุ้นครั้งแรก ในการตอบสนองภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์จะเกิดขึ้นเร็วและรุนแรงกว่าครั้งแรกมาก (โสมทัต, 2538)

ในการตรวจสอบเพื่อหาแอนติบอดีในซีรั่ม มีใช้กันอยู่หลายวิธีเช่น Agar gel precipitation (AGP), Complement Fixation (CF), Virus Neutralization (VN) และ Hemagglutination Inhibition (HI-test) เทคนิคที่ใช้วัดแอนติบอดีในซีรั่มเหล่านี้เรียกรวมๆกันว่า serological test (Islam และ Jones, 1998 อ้างโดย จารึก, 2534) ในปัจจุบันได้มีการนำเทคนิค ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) มาประยุกต์ใช้ในสัตว์ปีกเพื่อการวินิจฉัยโรคได้ดียิ่งขึ้น ซึ่งสามารถตรวจสอบได้ทั้งแอนติเจนและแอนติบอดี (Rivetz *et al.*, 1985 ; Marquardt *et al.*, 1979) และเนื่องจาก ELISA มีความไวของปฏิกิริยาสูงกว่าวิธี HI-test ซึ่ง ELISA จะใช้หลักการทำปฏิกิริยาของแอนติเจนและแอนติบอดี และใช้เอนไซม์เป็นตัวช่วยในการตรวจสอบระดับของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น

2.5 วัคซีน และการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล

วัคซีนเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพและความคุ้มทุนสูงที่สุดในการป้องกัน ควบคุม และกำจัดโรคระบาดสัตว์อันเกิดจากเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ อันได้แก่ ไวรัส แบคทีเรีย รวมทั้งโปรโตซัว หรือพยาธิต่างๆ ดังจะเห็นได้ว่าสัตว์เศรษฐกิจที่สำคัญ เช่น ไก่ จะต้องได้รับวัคซีนตั้งแต่แรกเกิด เพื่อป้องกันโรคร้ายแรงที่มีระบาดอยู่ภายในประเทศ ได้แก่ โรคนิวคาสเซิล โรคหลอดลมอักเสบติดต่อ ซึ่งหากไม่ได้รับวัคซีนก็จะมีผลทำให้ไก่ตาย และมีการติดต่อของโรคแพร่ไปยังไก่ตัวอื่นในฝูงเดียวกัน หรือที่อยู่ข้างเคียงเป็นผลให้เกิดความสูญเสียชีวิตสัตว์เป็นจำนวนมากและอย่างรวดเร็ว (กรมปศุสัตว์, 2550)

วัคซีน หมายถึง สารที่เมื่อให้เข้าไปในร่างกายแล้วสามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มโรคที่จำเพาะต่อสารนั้น ซึ่งจะเป็นการช่วยป้องกันการเกิดโรคนั้นด้วย สารที่กระตุ้นอาจเตรียมมาจากตัวจุลชีพ ส่วนประกอบของจุลชีพที่ได้รับการดัดแปลง หรือเป็นสารที่สังเคราะห์ขึ้นมา ซึ่งวัคซีนสามารถจำแนกได้ 2 ชนิด ตามลักษณะเชื้อที่ใช้ คือ

2.5.1 วัคซีนเชื้อตาย

วัคซีนเชื้อตาย (killed หรือ inactivated vaccine) เป็นวัคซีนที่เตรียมจากเชื้อที่มีความรุนแรง และถูกทำให้ตายด้วยวิธีทางฟิสิกส์หรือเคมี การทำลายเชื้อด้วยความร้อนมักไม่ค่อยนิยม เนื่องจากความร้อนสามารถทำลาย antigenic structure ของเชื้อได้ จึงนิยมใช้สารเคมี เช่น Formaldehyde หรือสารเคมีในกลุ่ม Alkylating agents เช่น ethylene oxide, ethylenimine, acetyl-

ethylinimine และ β-propriolactone ซึ่งทั้งสองกลุ่มนี้นอกจากจะสามารถทำลายเชื้อได้แล้ว ยังคงรูปเชื้อได้เป็นอย่างดีอีกด้วย

2.5.2 วัคซีนเชื้อเป็น

วัคซีนเชื้อเป็น (live attenuated vaccine) เป็นวัคซีนที่เตรียมมาจากเชื้อพิษที่ลดความรุนแรงลง (attenuation) จนไม่ทำให้เกิดโรคในผู้รับ เชื้อชนิดนี้สามารถแพร่ขยายเพิ่มปริมาณได้ในผู้รับ การลดความรุนแรงของเชื้อในการเตรียมวัคซีนเชื้อเป็นสามารถกระทำได้หลายวิธี เช่น การใช้ความร้อนหรือสารเคมีทำลายเชื้อแต่ไม่ถึงตาย วิธีการนี้ค่อนข้างเสี่ยงต่อการเกิดโรคขึ้นอีก การเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่ไม่เหมาะสม ทำให้เชื้อลดความรุนแรงลง การผ่านไวรัสเข้าในเซลล์ หรือผู้ถูกอาศัยที่ไม่ใช่ผู้ถูกอาศัยปกติโดยการผ่านเชื้อไวรัสที่มีความรุนแรงเข้าในผู้ถูกอาศัยที่ไม่ปกติจะทำให้ไวรัสลดความรุนแรงลง การผ่านไวรัสลงในไข่ฟัก และการผ่านไวรัสลงไปในเซลล์เพาะเลี้ยงซึ่งเป็นวิธีการที่แพร่หลายมากในการลดความรุนแรงของไวรัสลง

2.5.3 ข้อดีและข้อเสียของการใช้วัคซีนเชื้อเป็นและเชื้อตาย

วัคซีนเชื้อตายให้ความคุ้มที่ไม่ค่อยดี อาจต้องใช้หลายครั้งเพื่อเพิ่มความคุ้มโรค ทำให้มีโอกาสที่จะเกิดภาวะภูมิไวเกินขึ้นได้ รวมทั้งเป็นการเพิ่มภาระงานและค่าใช้จ่าย แต่ข้อดีของวัคซีนเชื้อตายนี้คือ มีความปลอดภัยสูง การเก็บรักษาและการใช้ค่อยข้างง่ายและสะดวก โดยทั่วไปวัคซีนเชื้อเป็นนั้นสามารถเพิ่มปริมาณได้ในผู้รับ จึงให้ความคุ้มโรคที่ดีวัคซีนเชื้อเป็นสามารถสร้าง interferon ได้ก่อนที่จะมีการสร้างภูมิคุ้มกันขึ้น นอกจากนั้นวัคซีนชนิดนี้มักจะกระตุ้นให้มีการสร้างภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ได้ดีกว่าวัคซีนไวรัสเชื้อตาย แต่วัคซีนเชื้อเป็นอาจจะมีความเสี่ยงหลายประการ เช่น การทำให้เกิดผลข้างเคียงค่อนข้างรุนแรงได้ เสี่ยงต่อการติดโรคอื่นที่ปนเปื้อนมากับวัคซีน ที่สำคัญวัคซีนเชื้อเป็นต้องการเก็บรักษาอย่างดีโดยเฉพาะในอุณหภูมิต่ำซึ่งทำให้ต้นทุนเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ในประเทศเขตร้อน (โสมทัต, 2538)

การตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีนนั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของวัคซีนที่ใช้ และพันธุ์ของสัตว์ทดลองคือไก่ต่างสายพันธุ์กันสามารถที่จะตอบสนองต่อวัคซีนชนิดเดียวกันได้ไม่เท่ากัน จำนวนสัตว์ทดลองที่ใช้อยู่ที่ 10–50 ตัว ซึ่งจำนวนสัตว์ทดลองในปริมาณนี้ทำให้เกิดความแปรปรวนไม่สูงมากนัก ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลในไก่พันธุ์ต่างๆ

พันธุ์ไก่ และอายุ	**จำนวน (ตัว)**	**ชนิดวัคซีน**	**ระดับ titer**	**ที่มา/ หมายเหตุ**
1. Bedouin, Bedouin x Leghorn, Leghorn x Bedouin และ Leghorn	แบ่งเป็น 4 กลุ่ม		Mean	Peleg และคณะ (1981) ให้วัคซีนที่อายุ 28 วัน
Day 5 PV (Post Vaccination)	-, 32, 20 และ 50	NDV	-, 1.56, 2.00 และ 1.22	
Day 11 PV	-, 32, 20 และ 50		-, 6.24, 6.77 และ 7.16	
Day 6 PV	50, 40, 38 และ 50		0.2, 0.06, 0.33 และ 0.54	
Day 14 PV	50, 40, 38 และ 50		4.71, 5.39, 4.64 และ 4.49	
Day 21 PV	50, 40, 38 และ 50		5.47, 5.43, 5.18 และ 4.47	
Day 28 PV	50, 40, 38 และ 50		3.57, 4.00, 3.88 และ 3.46	
2. ไก่พื้นเมืองประเทศอิหร่าน	15		Mean±SD	Hassanzadeh และ Bozorgmeri (2004)
IH: ให้วัคซีน HB1 1 ครั้ง		Hitchner B1		
0 days (PV)		(HB1)	1.9±0.6	
30 days			4.8±0.6	
60 days			4.8±0.8	
90 days			4.7±0.6	
120 days			5.9±0.8	

ตารางที่ 1 ระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลในไก่พันธุ์ต่างๆ (ต่อ)

พันธุ์ไก่ และอายุ	**จำนวน (ตัว)**	**ชนิดวัคซีน**	**ระดับ titer**	**ที่มา/ หมายเหตุ**
3. Bovans White ไก่ประเทศบังคลาเทศ	10		Mean±SD	Rahman และคณะ (2002)
อายุไก่ 1, 5, 10, 15 และ 20 วัน		- ND clone 30	285.5±4.1, 145.5±2.9, 73.6±3.9,	
			34.4±3.8 และ 18.7±3.8	
		- Newcavac	289.4±3.8, 143.8±3.2, 71.5±2.6,	
			34.5±2.7 และ 17.1±0.9	

2.6 ปัจจัยที่มีผลกระทบต่อการสร้างภูมิคุ้มกัน

พันธุกรรมมีบทบาทในการควบคุมความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิล ลักษณะความสามารถดังกล่าวควบคุมด้วยกลุ่มของยีน ซึ่งเป็นยีนซึ่งควบคุมความสามารถ ในการสร้างภูมิคุ้มกันโรคชนิดอื่นๆ ด้วย (Soller *et al.*, 1981) ความแตกต่างของค่าพันธุกรรมเริ่มในช่วงที่ร่างกายมีการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกัน จนถึงในระยะที่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันต่อแอนติเจนได้ ซึ่งเกิดภายในกลุ่มและระหว่างกลุ่มของสัตว์ปีก (Peleg *et al.*, 1976) ในการศึกษาเกี่ยวกับความต้านทานโรคในสัตว์นั้นเป็นผลของอิทธิพลระหว่างพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม โดยปกติโรคมักเกิดขึ้นเมื่อสภาพแวดล้อมเอื้ออำนวยให้กับพันธุกรรมที่โน้มเอียงก่อให้เกิดโรคอยู่แล้ว ในการป้องกันโรคจึงต้องมีการปรับสภาพแวดล้อมร่วมกับการให้วัคซีน (จารึก, 2534) ในไก่พื้นเมืองพบว่า มีความต้านทานโรคระบาดที่สำคัญ คือ โรคฝีดาษ อหิวาต์ไก่ และนิวคาสเซิล ได้สูงกว่าไก่ลูกผสมพื้นเมือง และไก่พันธุ์แท้จากต่างประเทศ (เกรียงไกร และคณะ, 2543 ; เชิดชัยและบัญญัติ, 2525) เช่นเดียวกับเชิดชัย (2529) ได้ตั้งข้อสังเกตว่าการที่ไก่พื้นเมืองมีความสามารถในการต้านทานต่อโรคนิวคาสเซิล ทั้งก่อนและหลังการให้วัคซีนสูงกว่าในไก่พันธุ์โร้ดไอแลนเรด บาร์พลีมัธร็อค ลูกผสมพื้นเมืองกับโร้ดไอแลนด์เรด และลูกผสมพื้นเมืองกับบาร์พลีมัธร็อค เป็นผลทางด้านพันธุกรรม สอดคล้องกับการศึกษาของ Hassan และคณะ (2004) ได้ทดลองฉีดเชื้อพิษนิวคาสเซิลชนิดรุนแรงในปริมาณ 10^6 CLD_{50}/ตัว ในไก่พื้นเมืองอียิปต์ 4 พันธุ์ ที่อายุ 5 สัปดาห์ พบว่า หลังได้รับเชื้อ 14 วัน ไก่พื้นเมืองทั้ง 4 พันธุ์ มีอัตราการตายที่แตกต่างกัน ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากพันธุกรรม เช่นเดียวกันกับ เชิดชัย และบัญญัติ (2525) ได้ทดลองฉีดเชื้อนิวคาสเซิลในไก่พื้นเมือง โร้ดไอแลนด์เรด บาร์พลีมัธร็อค ลูกผสมพื้นเมืองกับโร้ดไอแลนด์เรด และลูกผสมพื้นเมืองกับบาร์พลีมัธร็อค ปรากฏว่า ไก่พื้นเมืองมีความต้านทานต่อโรคนิวคาสเซิลสูงกว่าโร้ดไอแลนด์เรด บาร์พลีมัธร็อค ลูกผสมพื้นเมืองกับโร้ด ไอแลนด์เรด และลูกผสมพื้นเมืองกับบาร์พลีมัธร็อค และในปัจจุบันเป็นที่ทราบกันแล้วว่ายีนที่ ทำหน้าที่ในการควบคุมการสร้างภูมิคุ้มกันและความต้านทานโรคเป็นยีนในกลุ่มของ เอ็ม เอช ซี (MHC หรือ Major histocompatibility gene complex) (Dorf, 1981) ซึ่ง MHC ประกอบด้วยยีนจำนวน 3 class อยู่บน genome เดียวกัน คือ MHC class I gene จะ code สำหรับโปรตีนที่พบบนผิวของ nucleated cell MHC class II gene ซึ่ง code สำหรับโปรตีนที่พบบนผิวของ immune cell เท่านั้น โปรตีนทั้ง class I และ class II จะทำหน้าที่เป็น peptide receptor สำหรับควบคุมการเกิด antigen presentation ต่อ lymphocyte ดังนั้นจึงจำเป็นในการควบคุมการสร้างภูมิคุ้มกันของร่างกาย ส่วน MHC class III gene จะ code สำหรับโปรตีนที่มีผลต่อ immune response หลายชนิด (โสมทัต, 2538) ตัวอย่างที่เห็นง่ายๆ คือ คู่แฝดที่กำเนิดจากไข่ใบเดียวกัน (monozygotic twin) มักจะเป็นโรคเดียวกันมากกว่าคู่แฝดที่กำเนิดจากไข่คนละใบ (dizygotic twin) และโรคบางอย่างมักเป็นกับกลุ่มชนเชื้อชาติ

หนึ่งมากกว่าอีกเชื้อชาติหนึ่ง เป็นต้น (สุทธิพันธ์, 2529) MHC ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างภูมิคุ้มกัน ประกอบด้วยยีนที่กำหนดชนิดของแอนติเจนหลายอย่างบนผิวเซลล์ ยีนที่กำหนดชนิดขององค์ประกอบของคอมพลีเมนต์ (complement) บางตัว สำหรับในคน กลุ่มยีนที่ทำหน้าที่คล้าย MHC มีชื่อเรียกว่า Human Leukocyte Antigen (HLA) ซึ่ง MHC มีชื่อเรียกแตกต่างกันไปในสัตว์แต่ละชนิด ส่วนในไก่จะเรียกว่า B system หรือ B complex (ประพันธ์, 2527 ; Scheirman และ Nordskog, 1961)

ภูมิคุ้มกันจากแม่ (maternal immunity) พบในลูกไก่ที่ฟักจากแม่ไก่ที่ได้รับวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลอยู่เป็นประจำ ภูมิคุ้มกันนี้มีค่าสูงเมื่อลูกไก่ฟักออกมาใหม่ๆ และค่อยๆลดลงเรื่อยๆ จนลูกไก่อายุได้ 3-4 สัปดาห์ ภูมิคุ้มกันจากแม่จะหมดไป (เชิดชัย และคณะ, 2524) ส่วนภูมิคุ้มกันที่ลูกไก่ได้รับจากแม่ไก่ เกิดจากแอนติบอดีในซีรั่มจะส่งผ่านจากแม่ไก่ไปยัง yolk ได้ในขณะที่ไข่ยังอยู่ในรังไข่ และเมื่อไข่ผ่านลงมายังท่อนำไข่ (oviduct) ทั้ง IgM และ IgA ใน oviduct secretion จะรวมเข้ากับ albumin เมื่อตัวอ่อนเติบโตขึ้นก็จะดูดซึม IgG บางส่วนจาก yolk เข้ามาในกระแสโลหิต ส่วน IgM และ IgA จะอยู่ใน amniotic fluid และถูกกลืนโดยตัวอ่อน ดังนั้นลูกไก่จะมี IgG ในกระแสโลหิตและพบ IgM และ IgA ในลำไส้ ลูกไก่ที่เกิดใหม่จะไม่ดูดซึมแอนติบอดีใน yolk sac ทั้งหมดก่อน 24 ชั่วโมงหลังฟักเป็นตัว และแอนติบอดีที่ลูกไก่ได้รับจากแม่นี้จะรบกวนการให้วัคซีนได้ และแอนติบอดีจะลดลงมากใน 10-20 วันหลังฟักเป็นตัว (โสมทัต, 2538) ภูมิคุ้มกันของลูกไก่ที่เกิดจากแม่ที่มีภูมิคุ้มกันโรคสูงจะมีค่าสูงกว่าลูกไก่ที่แม่มีภูมิคุ้มกันโรคต่ำ ทำให้ลูกไก่ต้านทานต่อเชื้อโรคโดยเฉพาะโรคระบบทางเดินหายใจได้ดีกว่า จึงมีสุขภาพที่ดีกว่า (อำนวยและคณะ, 2539 ; Majiyagbe และ Hitchner, 1977) จากการรายงานของเชิดชัย และบัญญัติ (2528) พบว่า ลูกไก่พื้นเมืองอายุ 2 และ 4 สัปดาห์ที่มีภูมิคุ้มกันจากแม่ต่ำมากจะตอบสนองต่อการให้วัคซีน นิวคาสเซิลเสตรนเอฟได้ดี และลูกไก่พื้นเมืองที่มีภูมิคุ้มกันจากแม่ปานกลางจะตอบสนองต่อการให้วัคซีนเสตรนเอฟได้น้อยมาก จึงเห็นได้ว่าภูมิคุ้มกันของลูกไก่ขณะที่ให้วัคซีนมีความสำคัญมากต่อการสร้างภูมิคุ้มกันหลังจากการให้วัคซีน เพราะการที่ลูกไก่มีภูมิคุ้มกันจากแม่อยู่ช่วงนี้ จะทำให้ไปขัดขวางการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันเมื่อมีการให้วัคซีน ซึ่งทำให้ภูมิคุ้มกันที่สร้างขึ้นใหม่มีค่าลดลง (Leitner *et al.*, 1994) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อการสร้างภูมิคุ้มกัน เช่น อายุของไก่ คุณภาพของวัคซีน ชนิดของวัคซีน วิธีการให้วัคซีน และโรคอื่นๆในไก่ ซึ่งลูกไก่ที่เลี้ยงอยู่ในสภาพชนบทอาจได้รับเชื้อนิวคาสเซิลชนิดไม่รุนแรงจากสิ่งแวดล้อมจะช่วยกระตุ้นให้ลูกไก่สร้างภูมิคุ้มกันได้ (เชิดชัย และบัญญัติ, 2528)

2.7 อัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันโรค

ลักษณะปรากฏเป็นผลรวมที่เกิดจากพันธุกรรมทั้งที่ถ่ายทอดได้ (additive genes) และไม่ได้ (non-additive genes) และผลจากอิทธิพลของสภาพแวดล้อม เราต้องการที่จะทราบสัดส่วนของลักษณะสังเกตอันเนื่องมาจากอิทธิพลของยีนแบบบวกสะสม เป็นสัดส่วนที่สามารถถ่ายทอดไปยังชั่วถัดไป นั่นคือ เราต้องการจะทราบอัตราการถ่ายทอดของลักษณะต่างๆไปยังลูกหลาน ซึ่งเรียกว่า อัตราพันธุกรรม (วุฒิพงษ์ และคณะ, 2543) การศึกษาการถ่ายทอดลักษณะทางพันธุกรรมเป็นเรื่องสำคัญมาก เพราะในการปรับปรุงลักษณะทางพันธุกรรมนั้น จะต้องทราบว่าลักษณะนั้นอยู่ภายใต้อิทธิพลของพันธุกรรมมากน้อยเพียงใด หากลักษณะนั้นอยู่ภายใต้อิทธิพลของพันธุกรรมเพียงส่วนน้อย แต่ส่วนมากเป็นอิทธิพลของสิ่งแวดล้อม การปรับปรุงลักษณะนั้นจะมีความก้าวหน้าช้า จะต้องเน้นในเรื่องการจัดการมากกว่าการคัดเลือกพันธุ์ หรือเป็นการปรับปรุงพันธุ์แบบค่อยเป็นค่อยไป ร่วมกับการเลี้ยงดูและการจัดการสัตว์ แต่ในกรณีที่ลักษณะใดสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ในระดับปานกลางถึงสูงมาก คืออยู่ภายใต้อิทธิพลของพันธุกรรมตั้งแต่ร้อยละ 25 ขึ้นไป การปรับปรุงทางพันธุกรรมของลักษณะนั้น จะก่อให้เกิดประโยชน์ในการปรับปรุงในลักษณะนั้นอย่างคุ้มค่า ฉะนั้นในการปรับปรุงพันธุ์สัตว์เพื่อปรับปรุงลักษณะใดๆ จำเป็นต้องคำนวณสัดส่วน หรือเปอร์เซ็นต์ความแตกต่างของลักษณะอันเกิดจากพันธุกรรม โดยเทียบกับความแตกต่างรวมทั้งสิ้นของลักษณะนั้น เรียกว่า ค่าอัตราพันธุกรรม (heritability) หรือใช้สัญลักษณ์ h^2 มีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 หรือ 0 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ และ กนก (2521) กล่าวว่า ค่าอัตราพันธุกรรมขึ้นอยู่กับค่าความแปรปรวน (variance) ของพันธุกรรม กับสิ่งแวดล้อมต่างๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น ปีเกิด เพศ ชุดฟัก เป็นต้น ดังนั้นไม่ว่า variance ของอะไรที่เปลี่ยนค่าไป ย่อมทำให้ค่าอัตราพันธุกรรมเปลี่ยนไปด้วยเสมอ ในสัตว์ฝูงเล็กที่เลี้ยงไว้นานหลายชั่วอายุจะมีค่าอัตราพันธุกรรมต่ำกว่าสัตว์ฝูงใหญ่ เนื่องจาก variance อันเกิดจากสภาพแวดล้อม ขึ้นอยู่กับสภาพทั่วไปและลักษณะการเลี้ยงดู สภาพแวดล้อมและการเลี้ยงดูที่เปลี่ยนอยู่เสมอจะทำให้อัตราพันธุกรรมลดลง ในทางตรงกันข้ามสภาพแวดล้อมสภาพแวดล้อมและการเลี้ยงดูที่สม่ำเสมอจะทำให้อัตราพันธุกรรมสูงขึ้น ดังนั้นเมื่อใดก็ตามที่กล่าวถึงค่าอัตราพันธุกรรมของลักษณะใดๆแล้ว ต้องเข้าใจว่าต้องระบุเสมอว่า เป็นค่าอัตราพันธุกรรมของสัตว์ฝูงใด หรือประชากรใด มีสภาพอย่างไรด้วย เพราะประชากรสัตว์ที่ต่างกันย่อมมีองค์ประกอบทางพันธุกรรม (เช่น ความถี่ของยีน) ต่างกัน ทั้งยังตกอยู่ภายใต้สภาพแวดล้อมที่ต่างกัน (สมชัย, 2530) Pirchner (1969) อธิบายว่าค่าอัตราพันธุกรรม นั้นมิได้เป็นค่าคงที่แน่นอน เพราะเป็นเพียงค่าที่บ่งบอกถึงสัดส่วนของ variance อันเนื่องมาจาก additive gene effect ของฝูงสัตว์แต่ละฝูงในช่วงเวลาแต่ละช่วงเท่านั้น ดังนั้นพันธุกรรมกับสิ่งแวดล้อมทั้งสองปัจจัยนี้มีความสำคัญมาก สัตว์ที่มีพันธุกรรมดีจะมี

คุณภาพดีไม่ได้ หากไม่ได้รับสิ่งแวดล้อมที่ดี แต่ถ้าสัตว์ได้รับสิ่งแวดล้อมที่ดีก็จะสามารถแสดงคุณภาพได้สูงสุดตามที่พันธุกรรมกำหนดไว้ (จรัญ, 2516)

Peleg และคณะ (1976) ได้ประมาณค่าอัตราพันธุกรรมในการตอบสนองต่อวัคซีนเชื้อเป็นและเชื้อตายในไก่ไวท์ร็อค มีค่าอัตราพันธุกรรม±SE เท่ากับ 0.31±0.29 และ 0.60±0.32 ตามลำดับ Reta และคณะ (1963) ศึกษาการตอบสนองของวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนบี 1 ของตัวอ่อนในไก่อายุ 10 วัน ในระหว่างการฟัก พบว่าค่าอัตราพันธุกรรมที่คำนวณจากส่วนประกอบที่มาจากพ่อและแม่ มีค่าเท่ากับ 0.77 นอกจากนี้ Soller และคณะ (1981) ได้ศึกษาการสร้างภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิลในไก่ที่ผลิตในเชิงการค้า พบว่ามีค่าอัตราพันธุกรรมของระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลเท่ากับ 0.41±0.17 ส่วน Van der Zijpp (1984) ได้ศึกษาการสร้างแอนติบอดีตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อตายในไก่ พบว่ามีค่าอัตราพันธุกรรมที่ประมาณจากสัตว์ที่มีพ่อเดียวกันแต่ต่างแม่ (paternal half sib) มีค่าเท่ากับ 0.42 และประมาณจากสัตว์ที่มีแม่เดียวกันแต่ต่างพ่อ (maternal half sib) มีค่าเท่ากับ 0.16 Takahashi และคณะ (1984) ได้ประมาณค่าอัตราพันธุกรรมของนกกระทาญี่ปุ่นสองสายพันธุ์ เพื่อคัดเลือกให้ได้พวกที่มีการตอบสนองต่อการสร้างแอนติบอดีตอบสนองต่อโรคนิวคาสเซิลในระดับสูงและต่ำที่ประมาณค่าอัตราพันธุกรรมจากค่าเฉลี่ยของพ่อและแม่มีค่าประมาณ 0.12±0.50 Gyles และคณะ (1986) ได้ศึกษาการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิลในไก่อายุ 3 สัปดาห์ หลังจากนั้นสัปดาห์ที่ 1, 2, 3 และ 4 หาค่าแอนติบอดีไตเตอร์แล้วนำมาคำนวณหาค่าอัตราพันธุกรรม พบว่าเมื่อคำนวณจาก paternal half sib มีค่าเท่ากับ 0-0.37 คำนวณจากสมการถดถอยของค่าลักษณะปรากฏของลูกและค่าเฉลี่ยลักษณะปรากฏของพ่อแม่ (regression of offspring on midpoint of parent) มีค่าเท่ากับ 0.04-0.15 คำนวณจากสมการถดถอยของค่าลักษณะปรากฏของลูกและค่าลักษณะปรากฏของพ่อ (regression of offspring on sire) มีค่าเท่ากับ 0-0.30 และคำนวณจากสมการถดถอยของค่าสังเกตลักษณะปรากฏของลูกและค่าสังเกตลักษณะปรากฏของแม่ (regression of offspring on dam) มีค่าเท่ากับ 0.04-0.18 ส่วน Sacco และคณะ (1994) ได้ประมาณค่าอัตราพันธุกรรมของระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลในไก่งวง พบว่าค่าอัตราพันธุกรรมก่อนและหลังให้วัคซีนมีค่าเท่ากับ 0.38±0.07 และ 0.30±0.06 ตามลำดับ ส่วนจารึก (2534) ได้ศึกษาผลของพันธุกรรมต่อระดับภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิลในไก่ลูกผสมพื้นเมืองที่เลี้ยงในสภาพชนบทเพื่อคำนวณหาค่าอัตราพันธุกรรมที่ประมาณจากพ่อและแม่ ประมาณจากพ่อ และประมาณจากแม่ ที่อายุ 5 สัปดาห์ ที่เลี้ยงในหมู่บ้าน จังหวัดกาฬสินธุ์ พบว่ามีค่าอัตราพันธุกรรมเท่ากับ 0.26±0.09, 0.21±0.07 และ 0.24±0.05 ตามลำดับ และเลี้ยงในหมู่บ้าน จังหวัดขอนแก่นมีค่า 0.19±0.16, 0.11±0.07 และ 0.15±0.08 ตามลำดับ และค่าอัตราพันธุกรรมที่อายุ 10 สัปดาห์ ที่เลี้ยงในหมู่บ้าน จังหวัดกาฬสินธุ์ มีค่าเท่ากับ 0.25±0.08, 0.13±0.06

และ 0.19±0.05 ตามลำดับ และเลี้ยงในหมู่บ้าน จังหวัดขอนแก่นมีค่า 0.24±0.09, 0.16±0.08 และ 0.20±0.07 ตามลำดับ และอำนวย และคณะ (2541) ได้ประมาณค่าอัตราพันธุกรรมในการสร้างภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิลในไก่พื้นเมือง มีค่าเท่ากับ 0.24±0.18 ดังแสดงในตารางที่ 2 จึงเห็นได้ว่าค่าอัตราพันธุกรรมในการสร้างภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิลของสัตว์ปีกอยู่ในช่วง 0–0.77 ถือว่าเป็นค่าอัตราพันธุกรรมที่อยู่ในระดับต่ำ ถึงระดับสูง (สมจิตต์, 2530) ซึ่งสามารถที่จะคัดเลือกและผสมพันธุ์สัตว์ให้มีการสร้างภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิลให้สูงขึ้นได้

ตารางที่ 2 ค่าอัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิล

ชนิดสัตว์	แอนติเจน	h^2±SE	วิธีวิเคราะห์	ที่มา
ไก่	วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็น	0.31±0.29	sire variance	Peleg และคณะ
	วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อตาย	0.60±0.32	component	(1976)
ตัวอ่อนในไข่ไก่	วัคซีนนิวคาสเซิล	0.77	sire and dam variance component	Reta และคณะ (1963)
ไก่	วัคซีนนิวคาสเซิล	0.41±0.17	sire variance component	Soller และคณะ (1981)
ไก่	วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อตาย	0.42	paternal half sib	Van der Zijpp
		0.16	maternal half sib	(1984)
นกกระทาญี่ปุ่น	วัคซีนนิวคาสเซิล	0.12±0.50	sire and dam variance component	Takahashi และคณะ (1984)
ไก่	วัคซีนนิวคาสเซิล	0-0.37	paternal half sib	Gyles และคณะ
		0.04-0.15	regression of offspring on parent	(1986)
		0-0.30	regression of offspring on sire	
		0.04-0.18	regression of offspring on dam	
ไก่งวง	วัคซีนนิวคาสเซิล -primary response	0.38±0.07	sire and dam variance component	Sacco และคณะ (1994)
	-secondary response	0.30±0.06		

ตารางที่ 2 ค่าอัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันโรค (ต่อ)

ชนิดสัตว์	แอนติเจน	h^2±SE	วิธีวิเคราะห์	ที่มา
ไก่ลูกผสม	วัคซีนนิวคาสเซิล	<u>5 สัปดาห์</u>		จารึก (2534)
พื้นเมือง	(จังหวัดขอนแก่น)	0.19±0.16	sire variance component	
		0.11±0.07	dam variance component	
		0.15±0.08	sire and dam variance component	
	วัคซีนนิวคาสเซิล	0.26±0.09	sire variance component	
	(จังหวัดกาฬสินธุ์)	0.21±0.07	dam variance component	
		0.24±0.05	sire and dam variance component	
	วัคซีนนิวคาสเซิล	<u>10 สัปดาห์</u>		
	(จังหวัดขอนแก่น)	0.24±0.09	sire variance component	
		0.16±0.08	dam variance component	
		0.20±0.07	sire and dam variance component	
	วัคซีนนิวคาสเซิล	0.25 ±0.08	sire variance component	
	(จังหวัดกาฬสินธุ์)	0.13±0.06	dam variance component	
		0.19±0.05	sire and dam variance component	
ไก่พื้นเมือง	วัคซีนนิวคาสเซิล	0.24±0.18	half sib analysis	อำนวย และคณะ (2541)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สัตว์ทดลอง

3.1.1 การศึกษาการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล

ลูกไก่ชีคละเพศ อายุ 1 วัน แบ่งลูกไก่ออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

3.1.1.1 กลุ่มทดลอง

ใช้ลูกไก่ชีจำนวน 30 ตัว ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล

3.1.1.2 กลุ่มควบคุม

ใช้ลูกไก่ชีจำนวน 30 ตัว ไม่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล

3.1.2 การศึกษาหาค่าอัตราพันธุกรรม

ลูกไก่ชีคละเพศ อายุ 1 วัน จำนวน 475 ตัว ที่ได้จากพ่อพันธุ์ 62 ตัว และแม่พันธุ์ 136 ตัว จำนวน 2 ชุดฟัก

3.2 การให้วัคซีน

3.2.1 การศึกษาการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล

3.2.1.1 กลุ่มทดลอง

ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา (เชื้อเป็น) และวัคซีนชนิดอื่นๆ ตามโปรแกรมของกรมปศุสัตว์ ดังแสดงในตารางที่ 3

3.2.1.2 กลุ่มควบคุม

ไม่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล แต่ได้รับวัคซีนชนิดอื่นๆ ตามโปรแกรมของกรมปศุสัตว์

3.2.2 การศึกษาหาค่าอัตราพันธุกรรม

ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา และวัคซีนชนิดอื่นๆ ตามโปรแกรมของกรมปศุสัตว์

ตารางที่ 3 โปรแกรมวัคซีนป้องกันโรคระบาดในไก่พื้นเมืองที่ใช้ในศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ กรมปศุสัตว์ จังหวัดขอนแก่น

อายุไก่	ชนิดวัคซีน	วิธีให้วัคซีน
1 วัน	มาเร็กซ์	ฉีดเข้าใต้ผิวหนังบริเวณหนังศรีษะ
7 วัน	นิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา (เชื้อเป็น)	หยอดจมูก หยอดตา 1-2 หยด
10 วัน	กัมโบโร	หยอดจมูก
14 วัน	หลอดลมอักเสบติดต่อ	หยอดจมูก หยอดตา 1-2 หยด
21 วัน	นิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา (เชื้อเป็น)	หยอดจมูก หยอดตา 1-2 หยด
37 วัน	ฝีดาษ	แทงปีก
59 วัน	อหิวาต์ไก่	ฉีดเข้ากล้ามเนื้ออก
89 วัน	นิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา (เชื้อเป็น)	หยอดจมูก หยอดตา 1-2 หยด

3.3 การเก็บตัวอย่าง

3.3.1 การศึกษาการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล

3.3.1.1 การเจาะเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดของลูกไก่ทั้งสองกลุ่มโดยวิธีการสุ่ม ทั้งนี้เนื่องจากไม่สามารถเก็บเลือดของลูกไก่แต่ละตัวตลอดงานทดลองได้ เพราะมีลูกไก่บางส่วนที่ตายในระหว่างการทดลอง ดังนั้นเพื่อให้ได้ข้อมูลจนครบ 16 สัปดาห์ การเจาะเลือดแต่ละครั้งจึงทำการสุ่มเจาะเลือดโดยวิธีการจับฉลาก จนครบ 30 ตัว ในแต่ละกลุ่ม โดยจะเจาะเลือดจำนวน 6 ครั้ง ที่อายุ 1, 3, 4, 5, 7 และ 16 สัปดาห์ โดยจะเก็บเลือดทุกๆ วันจันทร์ของสัปดาห์ ขนาดเข็มที่ใช้เจาะเลือด ที่อายุ 1 และ 3 สัปดาห์ ใช้เบอร์ 25 เจาะเก็บเลือดบริเวณเส้นเลือดที่คอ (jugular vein) เนื่องจากเส้นเลือดที่บริเวณปีก (wing vein) มีขนาดเล็กมากจนไม่สามารถเจาะเลือดได้ ส่วนที่อายุ 4–16 สัปดาห์ ใช้เบอร์ 24 เจาะเก็บเลือดบริเวณเส้นเลือดที่ปีก ตัวละประมาณ 0.5–1.0 มิลลิลิตร (มล.) ใส่ในหลอดขนาดเล็ก (micro tube) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อนำไปปั่นแยกซีรั่มต่อไป

3.3.1.2 การเตรียมซีรั่ม

นำเลือดที่บรรจุอยู่ในหลอดขนาดเล็ก (micro tube) ขนาด 1.5 มล. ที่ทิ้งไว้ให้เลือดแข็งตัวที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1-2 ชม. แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องความเร็วรอบ 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วดูดแยกเอาเฉพาะส่วนของซีรั่มใส่ใน micro tube มาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำไปวัดระดับแอนติบอดีโดยเทคนิค ELISA ต่อไป

3.3.2 การศึกษาหาค่าอัตราพันธุกรรม

3.3.2.1 การเจาะเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดไก่ที่อายุ 7 สัปดาห์ จำนวน 475 ตัว โดยใช้เข็มเบอร์ 24 เจาะบริเวณเส้นเลือดปีก ออกมาประมาณ 0.5 – 1.0 มล. ใส่ใน micro tube ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อนำไปปั่นแยกซีรั่มต่อไป

3.3.2.2 การเตรียมซีรั่ม

นำเลือดที่บรรจุอยู่ใน micro tube ขนาด 1.5 มล. ที่ทิ้งไว้ให้เลือดแข็งตัวที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1-2 ชม. แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องความเร็วรอบ 3,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วดูดแยกเอาเฉพาะส่วนของซีรั่มใส่ใน micro tube มาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ด้วยวิธี ELISA ต่อไป

3.4 การตรวจหาแอนติบอดีต่อโรคนิวคาสเซิลด้วยวิธี ELISA

ใช้เทคนิค ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) ในการวัดระดับภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิลเพราะเป็นเทคนิคที่สามารถวัดแอนติบอดีที่ได้ผลรวดเร็วและแม่นยำ (Crowther, 1995 ; Little *et al.*, 1988) ELISA เป็นวิธีที่มีความไวและตรวจสอบได้ละเอียดกว่า HI-test โดยใช้หลักการทำปฏิกิริยาของแอนติเจนและแอนติบอดี และใช้เอนไซม์เป็นตัวช่วยในการตรวจสอบระดับของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น การทำวิจัยในครั้งนี้ใช้ ELISA kit สำเร็จรูปของบริษัท Synbiotic corpoation, USA (2006) เพื่อวัดระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล จากตัวอย่างซีรั่มในไก่ โดย ELISA ถูกพัฒนาเพื่อช่วยในการตรวจสอบเกี่ยวกับระดับของแอนติบอดีก่อนและหลังการให้วัคซีนในไก่

3.4.1 ขั้นตอนการเตรียมการวิเคราะห์ ELISA

3.4.1.1 การเตรียมสารละลาย

1) การเตรียม Conjugate solution ใช้ horseradish peroxidase conjugated anti-chicken IgG (H+L) 100 µl เจือจางกับ dilution buffer 10 มิลลิลิตร (ml) (1:100) แล้วเขย่าให้เข้ากัน

2) การเตรียม Wash solution ใช้ concentrate wash solution 20 ml ผสมกับน้ำกลั่น 380 ml แล้วเขย่าให้เข้ากัน

3) การเตรียม Stop solution ใช้ concentrate stop solution 2 ml ผสมกับน้ำกลั่น 8 ml แล้วเขย่าให้เข้ากัน

3.4.1.2 การเตรียมซีรั่มตัวอย่าง และซีรั่ม Negative control

1) ใส่ dilution buffer หลุมละ 300 ไมโครลิตร (µl) ในถาดเปล่าทุกหลุม

2) ใส่ซีรั่มของลูกไก่ที่เตรียมไว้ในถาดที่ใส่ dilution buffer ไว้แล้ว หลุมละ 6 µl (เพื่อเจือจาง 1 : 50)

3) ใส่ negative control serum หลุมละ 6 µl ในหลุม A2, H10 และ H12 ดังแสดงในภาพที่ 7

4) ทิ้งไว้ 5 นาที ก่อนที่จะย้ายไป ถาดที่ coat antigen

	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 7 ลักษณะของ ELISA plate

3.4.1.3 การเตรียมซีรั่ม Positive control

เจือจาง ซีรั่ม positive control ด้วย dilution buffer อัตราส่วน 1:50 คือใส่ positive control serum 6 µl ลงไปใน dilution buffer 300 µl

3.4.2 วิธีการวิเคราะห์ ELISA

3.4.2.1 นำถาดที่ coat antigen เรียบร้อยแล้ว ออกจากถุงที่บรรจุไว้ แล้วเติม dilution buffer หลุมละ 50 µl ทุกหลุม

3.4.2.2 ใส่ซีรั่ม positive control ที่เจือจางไว้แล้ว ลงในหลุม A1, A3 และ H11 หลุมละ 50 µl

3.4.2.3 ดูดซีรั่มตัวอย่างของลูกไก่ชีที่เจือจางไว้แล้วมาใส่ตามหลุม คือ จาก A4 – H9 หลุมละ 50 µl และซีรั่ม negative control ใส่ในหลุม A2, H10 และ H12 หลุมละ 50 µl

3.4.2.4 ทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

3.4.2.5 เมื่อครบ 30 นาทีแล้วเคาะของเหลวออกจากถาด เสร็จแล้วเติม wash solution ลงไปทุกหลุมๆ ละ 300 µl ทิ้งไว้ 3 นาที แล้วเคาะของเหลวออกจากหลุมอีกครั้ง ล้างซ้ำอีก 2 ครั้ง

3.4.2.6 เมื่อเคาะของเหลวออกจากถาดเรียบร้อยแล้ว เติม conjugate solution ที่เจือจางไว้แล้ว หลุมละ 100 µl แล้วทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

3.4.2.7 เมื่อครบ 30 นาที แล้วเคาะของเหลวออกจากถาดให้หมด แล้วล้างซ้ำตามวิธีการดังข้อ 5 อีกครั้ง

3.4.2.8 เมื่อล้างถาดเสร็จและเคาะของเหลวออกจากถาดเรียบร้อยแล้วเติม substrate solution หลุมละ 100 µl ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

3.4.2.9 เมื่อครบ 15 นาที ใส่ stop solution ที่เจือจางไว้แล้วหลุมละ 100 µl แล้วนำไปอ่านค่าดูดกลืนแสง หรือค่า O.D. (optical density) ด้วยเครื่อง ELISA reader ที่ค่าดูดกลืนแสง 405 นาโนเมตร ค่าที่ได้ มีช่วงระหว่าง 0–2

3.4.3 การคำนวณหาค่าการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อโรคนิวคาสเซิล (Titer)

คำนวณตามเอกสารคู่มือของบริษัท Synbiotic corpoation, USA (2006) คือ

3.4.3.1 คำนวณค่าเฉลี่ย Positive control serum จากค่า O.D. หลุมที่ A1, A3 และ H11

3.4.3.2 คำนวณค่าเฉลี่ย Normal control serum จากค่า O.D. หลุมที่ A2, H10 และ H12

3.4.3.3 คำนวณหาค่า Corrected Positive Control (CPC)

CPC = (O.D. เฉลี่ย positive control)-(O.D. เฉลี่ย negative control)

3.4.3.4 คำนวณหาค่าตัวอย่างต่อ Positive (Sp)

$$Sp = \frac{\text{(O.D. ของตัวอย่าง) – (O.D. เฉลี่ยของ negative control)}}{\text{CPC}}$$

3.4.3.5 คำนวณค่าไตเตอร์

$$LOG_{10}TITER = (1.464 \times LOG_{10}Sp) + 3.740$$

$$TITER = ANTILOG\ OF\ LOG_{10}TITER$$

3.4.4 การแปลผลการทดลอง

3.4.4.1 ค่า O.D. เฉลี่ยของ negative control ควรมีค่าน้อยกว่า 0.250

3.4.4.2 ค่า corrected positive control (CPC) ควรมีค่าอยู่ระหว่าง 0.250–0.900

3.4.4.3 ค่า O.D. เฉลี่ยของ positive control ควรมีค่าอยู่ระหว่าง 0.400–0.800

3.4.4.4 ไตเตอร์ในระดับที่ให้ผลลบ (Negative) มีค่า Sp = 0.150

3.4.4.5 ไตเตอร์ในระดับที่ให้ผลบวก (Positive) มีค่า Sp > 0.150 (Synbiotics, 2006)

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.5.1 การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของระดับไตเตอร์กลุ่มที่ได้รับวัคซีนและไม่ได้วัคซีนนิวคาสเซิล

นำข้อมูลที่ได้จากทั้งสองกลุ่มการทดลองมาวิเคราะห์ความแปรปรวน และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ T-test ที่เปรียบเทียบแบบ group comparison (ไพศาล, 2540 ; จรัญ, 2534) ในการเปรียบเทียบระดับแอนติบอดีในไก่ชี ทั้งสองกลุ่มคือ

กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มทดลอง ใช้ลูกไก่ชีจำนวน 30 ตัว ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล

กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มควบคุม ใช้ลูกไก่ชีจำนวน 30 ตัว ไม่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล

3.5.2 การหาค่าอัตราพันธุกรรม

วิเคราะห์หาค่าอัตราพันธุกรรมโดยใช้ โมเดลตัวสัตว์ (animal model) เพราะเป็นโมเดลที่นิยมใช้ในการประเมินพันธุกรรมของสัตว์ในปัจจุบัน ซึ่งโมเดลนี้จะอาศัยข้อมูลบันทึกตัวสัตว์จากทุกแหล่งร่วมกับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสัตว์ทั้งหมดในพันธุ์ประวัติ (animal

genetic relationship) และปรับอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยอื่นๆในรูปโมเดลผสม โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป BLUP (Best Linear Unbiased Prediction) ซึ่งเป็นวิธีการที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในการประเมินพันธุ์สัตว์ในปัจจุบัน และ Henderson (1973 อ้างโดย มนต์ชัย, 2548) ได้เป็นผู้นำเทคนิคนี้เข้ามาใช้ในการประเมินพันธุกรรมสัตว์ โดยเริ่มต้นในโคนม เนื่องจากว่า BLUP สามารถประมาณค่าของอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ เช่น ฝูง ปีเกิด ฤดูกาล เพศ อายุแม่ เป็นต้น พร้อมกับการประมาณค่าอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยสุ่ม เช่น ค่าพันธุกรรม ค่าสภาพแวดล้อมถาวร เป็นต้น ทำให้ค่าพันธุกรรมจากสัตว์ที่ประเมินมีการปรับด้วยอิทธิพลเหล่านั้นสามารถใช้เปรียบเทียบต่างฝูงหรือปีเกิดต่างกัน ได้ ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในงานประเมินพันธุกรรมสัตว์ที่ต้องมีการเปรียบเทียบพันธุกรรมจากหลายฝูง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติใช้ animal model ที่มีโมเดล ดังนี้

$$Y_{ijkh} = \mu + H_i + C_j + P_k + A_h + E_{ijkh}$$

เมื่อ Y_{ijk} = ข้อมูลที่ได้จากลูกตัวที่ h

μ = overall mean (ค่าเฉลี่ยทั้งหมด)

H_i = อิทธิพลคงที่ของการฟัก ชุดที่ i

C_j = อิทธิพลคงที่ของการเจาะเลือด ครั้งที่ j

P_k = อิทธิพลสุ่มของการวิเคราะห์ plate ที่ k

A_h = อิทธิพลสุ่มของตัวสัตว์ ตัวที่ h

E_{ijk} = อิทธิพลของความคลาดเคลื่อน

ซึ่งเขียนในรูปเมทริกซ์ได้ดังนี้

$$Y = X\beta + Za + e$$

เมื่อ Y = เวคเตอร์ของค่าสังเกต

B = เวคเตอร์ของอิทธิพลคงที่ (ได้แก่ ชุดฟัก, ครั้งที่เจาะเลือด และ plate ที่วิเคราะห์)

A = เป็นเวคเตอร์ของอิทธิพลสุ่มเนื่องจากตัวสัตว์ หรือพันธุกรรมแบบบวกสะสม

X, Z = incidence matrices ที่แสดงการปรากฏของอิทธิพล ß และ a ในแต่ละค่าสังเกตตามลำดับ

e = ความคลาดเคลื่อน

แล้วนำมาประเมินพันธุกรรมสัตว์โดยใช้โปรแกรม BLUP ที่ประเมินด้วยวิธี REMLF90/ BLUPF90-CHICKENPAK 2.5 ที่พัฒนาโดย I. Misztal, S. Tsuruta, T. Druet และ M. Duangjinda ซึ่งจะประเมินค่าอัตราพันธุกรรมโดยการประเมินองค์ประกอบของความแปรปรวน ดังนี้

$$h^2 = S_a^2 / (S_a^2 + S^2_e)$$

เมื่อ h^2 = ค่าอัตราพันธุกรรม (heritability)

S_a^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากอิทธิพลเนื่องจากตัวสัตว์ หรือพันธุกรรมแบบบวกสะสม

S^2_e = ความแปรปรวนเนื่องจากความคลาดเคลื่อน

บทที่ 4
ผลการศึกษา

4.1 ระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ลาโซตา อายุ 1-16 สัปดาห์

จากการวัดระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา จำนวน 6 ครั้งที่อายุ 1, 3, 4, 5, 7 และ 16 สัปดาห์ ของไก่ชีที่ให้วัคซีน 3 ครั้งเมื่ออายุ 1, 3 และ 13 สัปดาห์ ซึ่งเลี้ยงในศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ จ. ขอนแก่น ปีพ.ศ. 2549 พบว่าที่อายุ 1 สัปดาห์ ไก่ทั้งสองกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันของระดับแอนติบอดีไตเตอร์ ($P>0.05$) แต่ช่วงอายุ 3-16 สัปดาห์ ค่า LOG_{10}TITER ของไก่กลุ่มที่ได้รับวัคซีนสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิลอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 4 ชี้ให้เห็นว่าไก่ชีมีการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา อย่างชัดเจน การที่ความแปรปรวนระหว่างตัวสัตว์มีค่าสูงเนื่องจากไก่ชีฝูงนี้ เกิดจากพ่อแม่พันธุ์ที่ ไม่ได้มีการคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ในด้านการตอบสนองต่อวัคซีนยกเว้นการคัดเลือก ลักษณะภายนอกให้มีสีตรงตามลักษณะประจำพันธุ์มากที่สุดเท่านั้น

ตารางที่ 4 ค่า LOG_{10}TITER ของไก่ชีกลุ่มที่ไม่ได้รับและได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา ที่อายุ 1, 3, 4, 5, 7 และ 16 สัปดาห์

Weeks of age	LOG_{10}TITER ±SD	
	Unvaccinated	Vaccinated
1	1.28 ± 1.26^{a}	1.79 ± 0.91^{aA}
3	0.00 ± 0.00^{b}	1.90 ± 1.41^{aA}
4	0.52 ± 0.84^{b}	3.08 ± 0.81^{aB}
5	0.72 ± 0.97^{b}	2.90 ± 1.03^{aB}
7	0.96 ± 1.33^{b}	3.17 ± 0.49^{aB}
16	2.06 ± 0.71^{b}	2.68 ± 0.79^{aB}

* ^{a,b} ตัวอักษรที่ต่างกันในแถวเดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.01$)

^{A,B} ตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

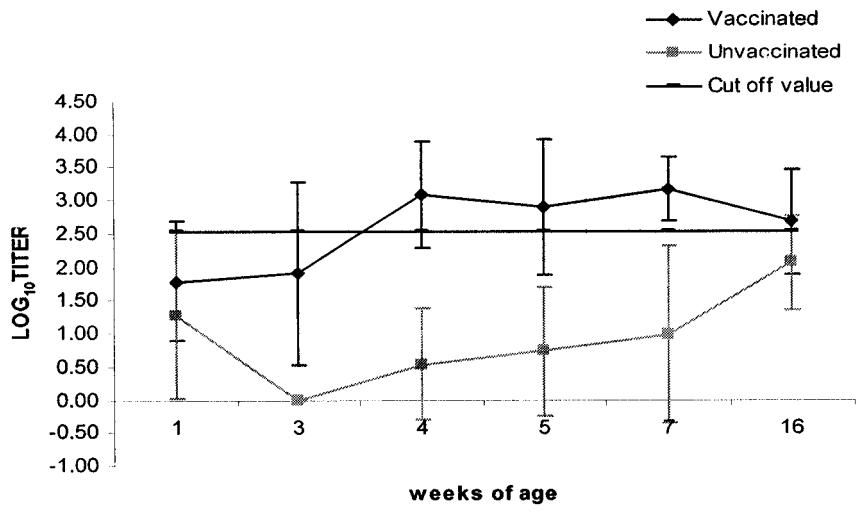
จากการเปรียบเทียบค่า LOG_{10}TITER ของไก่ชีที่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล เสตรนลาโซตา กับค่าต่ำสุดที่ป้องกันโรคได้ (cut off value) คือ LOG_{10}TITER = 2.53 (Synbiotics, 2006) ชี้ให้เห็นว่าสามารถป้องกันโรคได้สูงสุด 86.67 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีการกระตุ้นวัคซีนซ้ำครั้งที่สอง ดังแสดงในตารางที่ 5 โดยที่อายุ 3, 4, 5 และ 7 สัปดาห์ ไก่ชีมีไตเตอร์ในระดับที่ให้ผลบวกเพิ่มขึ้นเป็น 46.67, 86.67, 86.67 และ 86.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ที่อายุ 16 สัปดาห์ ลดลงเหลือ 60 เปอร์เซ็นต์ ส่วนไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนไม่มีไตเตอร์ในระดับที่ให้ผลบวกในช่วงอายุ 3–5 สัปดาห์ แต่มีเปอร์เซ็นต์ของไก่ที่มีไตเตอร์ในระดับที่ให้ผลบวกเพิ่มขึ้นเป็น 20 เปอร์เซ็นต์ที่อายุ 7 และ 16 สัปดาห์ สำหรับเปอร์เซ็นต์ของไก่ที่มีไตเตอร์อยู่ในระดับที่ให้ผลบวกเมื่ออายุ 1 สัปดาห์ ในไก่ทั้งสองกลุ่มนั้นเป็นผลเนื่องมาจากการให้วัคซีนในไก่พ่อแม่พันธุ์แล้วถ่ายทอดไปสู่ลูก

ตารางที่ 5 เปอร์เซ็นต์ไตเตอร์ในระดับที่ให้ผลบวก (LOG_{10}TITER = 2.53) ของไก่ชีกลุ่มที่ไม่ได้รับและได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา ที่อายุ 1, 3, 4, 5, 7 และ 16 สัปดาห์

	Weeks of age					
Groups	**1**	**3**	**4**	**5**	**7**	**16**
Unvaccinated (%)	23.33	0.00	0.00	0.00	20.00	20.00
Vaccinated (%)	16.67	46.67	86.67	86.67	86.67	60.00

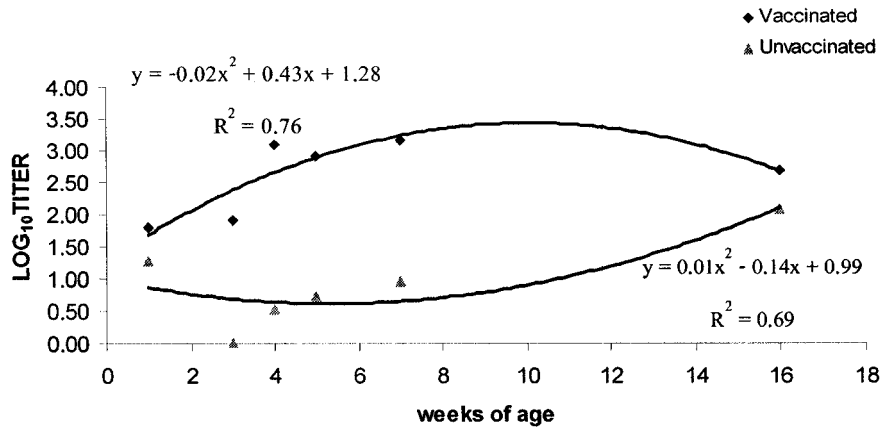
4.2 รูปแบบการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิลของไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี อายุ 1-16 สัปดาห์

รูปแบบการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา จากค่า LOG_{10}TITER ของไก่ทั้งสองกลุ่มคือ ไก่กลุ่มที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน (ภาพที่ 8) พบว่าในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีค่า LOG_{10}TITER ก่อนได้รับวัคซีน (อายุ 1 สัปดาห์) เท่ากับ 1.79±0.91 แต่หลังจากได้รับวัคซีนครั้งแรก ที่อายุ 3 สัปดาห์ มีค่า LOG_{10}TITER เพิ่มขึ้นเป็น 1.90±1.41 แต่ยังอยู่ต่ำกว่าเส้น cut off value ซึ่งสองช่วงอายุนี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) (ตารางที่ 4) หลังจากให้วัคซีนครั้งที่สอง พบว่าที่อายุ 4, 5 และ 7 สัปดาห์ มีค่า LOG_{10}TITER เพิ่มขึ้นจากอายุ 3 สัปดาห์ และอยู่เหนือเส้น cut off value ทั้งสิ้น และหลังจากการได้รับวัคซีนนิวคาสเซิลครั้งที่สาม ที่อายุประมาณ 13 สัปดาห์ แล้ววัดค่า LOG_{10}TITER ที่อายุ 16 สัปดาห์ พบว่ามีค่า LOG_{10}TITER ลดลงจากอายุ 7 สัปดาห์ แต่ยังอยู่เหนือเส้น cut off value โดยที่ช่วงอายุ 4-16 สัปดาห์นี้ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) แต่จะต่างกับช่วงอายุ 1 ถึง 3 สัปดาห์ (P<0.05) (ตารางที่ 4) ส่วนไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนมีไตเตอร์อยู่ในระดับที่ไม่สามารถป้องกันโรคได้ หรืออยู่ใต้เส้น cut off value ทั้งสิ้น



ภาพที่ 8 รูปแบบการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล ลาโซตาของไก่ชีกลุ่มที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีน

ความสัมพันธ์ระหว่างอายุกับระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนของไก่ทั้งสองกลุ่ม ในช่วงอายุ 1-16 สัปดาห์ (ภาพที่ 9) มีความสัมพันธ์กันแบบเส้นโค้ง คือ quadratic polynomial โดยกลุ่มที่ได้รับวัคซีนระดับแอนติบอดีเริ่มลดลงเมื่ออายุ 12 สัปดาห์ ($y = -0.02x^2 + 0.43x + 1.28$) ซึ่งอายุมีอิทธิพลต่อค่า LOG_{10}TITER ประมาณ 76 เปอร์เซ็นต์ (R^2=0.76) ส่วนไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนระดับแอนติบอดีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่ออายุประมาณ 8 สัปดาห์ ($y = 0.01x^2 - 0.14x + 0.99$) และอายุมีอิทธิพลต่อ ค่า LOG_{10}TITER ประมาณ 69 เปอร์เซ็นต์ (R^2=0.69)



ภาพที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างอายุกับค่า LOG_{10}TITER ของไก่ชีกลุ่มที่ได้รับวัคซีน และไม่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล ลาโซตา ช่วงอายุ 1–16 สัปดาห์

4.3 อัตราพันธุกรรมของการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ลาโซตา

ผลของค่าอัตราพันธุกรรมในการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตาที่ผลิตโดยกรมปศุสัตว์ ที่ประมาณจากตัวสัตว์เอง โดยใช้ Animal model จากค่า $LOG_{10}TITER$ ในการประเมินค่าอัตราพันธุกรรมของไก่ชี กลุ่มที่ได้รับวัคซีนที่อายุ 7 สัปดาห์ จำนวน 475 ตัว พบว่ามีค่าอัตราพันธุกรรม±SE เท่ากับ 0.02±0.05 ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ค่าอัตราพันธุกรรมของไก่ชีที่ตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา ที่อายุ 7 สัปดาห์

Weeks of age	N	S_a^2	S_e^2	h^2	SE
7	475	0.76	37.2	0.02	0.05

บทที่ 5
อภิปรายผลการศึกษา

5.1 ระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ลาโซตา อายุ 1-16 สัปดาห์

ผลการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี ซึ่งได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา เมื่ออายุ 1, 3 และ 13 สัปดาห์ และวัดระดับแอนติบอดีที่อายุ 1, 3, 4, 5, 7 และ 16 สัปดาห์ โดยวิธี ELISA เมื่อพิจารณาจากกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน กับกลุ่มที่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา จากตารางที่ 4 แสดงให้เห็นว่าไก่ทั้งสองกลุ่มเมื่อเริ่มต้นการทดลองไม่มีความแตกต่างกันของระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล (P>0.05) สาเหตุที่ตรวจพบระดับแอนติบอดีที่มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อนิวคาสเซิลได้เมื่ออายุ 1 สัปดาห์ทั้งสองกลุ่มแม้ว่ายังไม่ได้รับวัคซีน เกิดจากการที่ลูกไก่ทั้งสองกลุ่มการทดลองได้รับภูมิคุ้มกันจากแม่ เพราะไก่ทั้งสองกลุ่มนี้ได้จากไก่พ่อแม่พันธุ์ชุดเดียวกัน ซึ่งได้รับวัคซีนอย่างสม่ำเสมอตามโปรแกรมของกรมปศุสัตว์ ลูกไก่ที่เกิดจากแม่พันธุ์เหล่านี้จึงมีค่าระดับแอนติบอดีที่สูงเมื่อลูกไก่ฟักออกมาใหม่ๆ และลดลงเรื่อยๆ จนลูกไก่อายุได้ 3-4 สัปดาห์ ภูมิคุ้มกันจากแม่จะหมดไป (เชิดชัย และคณะ, 2524)

ไก่กลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีการตอบสนองต่อวัคซีนสูงกว่าไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ (P< 0.01) (ตารางที่ 4) เพราะการให้วัคซีนนิวคาสเซิลนั้นเป็นการให้แอนติเจนเข้าไปในร่างกายแล้วกระตุ้นให้ไก่สร้างแอนติบอดีที่เฉพาะเจาะจงกับแอนติเจนนั้นขึ้นมา ดังนั้นจึงสามารถตรวจวัดระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนได้ ส่วนกลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนนั้นไม่ได้รับแอนติเจนของวัคซีนนิวคาสเซิล จึงทำให้ไม่มีการสร้างแอนติบอดีขึ้นมาเพื่อจับกับแอนติเจน จึงทำให้มีระดับแอนติบอดีต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับวัคซีน ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในประเทศต่างๆ เช่น จารึก (2534) ได้ทดลองในไก่ลูกผสมพื้นเมืองไทย โดยใช้วัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนเอฟ เมื่ออายุ 5 สัปดาห์ และสเตรนเอ็มพี เมื่ออายุ 10 สัปดาห์ พบว่า ไก่กลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีค่าความดูดกลืนแสงสูงกว่ากลุ่มไม่ได้รับวัคซีน Tran Dinh Tu (2000) และ Vui และคณะ (2002) สรุปว่าไก่พื้นเมืองในประเทศเวียตนามที่ได้รับวัคซีน นิวคาสเซิล จะป้องกันโรคได้ตั้งแต่ 45.6-96 เปอร์เซ็นต์ แต่ไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนไม่สามารถที่จะป้องกันโรคได้ Hassanzadeh และ Bozorgmeri (2004) ชี้ให้เห็นว่าไก่พื้นเมืองในประเทศอิหร่านที่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรน Hitchner B1 (HB1) จะสร้างแอนติบอดีเพิ่มขึ้นหลังจากได้รับวัคซีน 30-120 วัน และ Rahman และคณะ (2004) พบว่าไก่เนื้อของ

ประเทศบังคลาเทศ ที่ได้รับวัคซีนวัคซีนนิวคาสเซิล (V_4HR-ND) ซ้ำครั้งที่สอง แล้วให้เชื้อพิษนิวคาสเซิล พบว่าไก่สามารถป้องกันเชื้อพิษได้ 60 เปอร์เซ็นต์ แต่กลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนมีอัตราการตาย 100 เปอร์เซ็นต์

ส่วนไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนพบว่าในช่วงอายุ 3-5 สัปดาห์ ไม่มีไตเตอร์ในระดับที่จะป้องกันโรคได้เลย แต่ที่อายุ 7 และ 16 สัปดาห์กลับพบว่าไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนนี้สามารถสร้างภูมิคุ้มกันให้อยู่ในระดับที่ป้องกันโรคได้เป็น 20 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 5) เหตุที่ไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนสามารถสร้างภูมิคุ้มกันขึ้นมาได้อาจเนื่องมาจากการได้รับเชื้อจากกลุ่มที่ได้รับวัคซีน หรือจากเชื้อชนิดไม่รุนแรงจากธรรมชาติจึงทำให้ไก่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันขึ้นได้ (โสมทัต, 2538 ; Alexander *et.al.*, 2004)

เพราะฉะนั้น การให้วัคซีนนิวคาสเซิล ลาโซตากับไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชีนั้น ทำให้ไก่สร้างแอนติบอดีขึ้นมาเพื่อที่จะป้องกันเชื้อไวรัสนิวคาสเซิลได้ดังแสดงในตารางที่ 5 และไก่กลุ่มที่ได้รับวัคซีนนั้นจะสร้างแอนติบอดีได้สูงกว่าไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีนตั้งแต่ 1.3-5.9 เท่า

5.2 รูปแบบการตอบสนองต่อวัคซีนนิวคาสเซิลของไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี อายุ 1-16 สัปดาห์

เมื่อพิจารณาการตอบสนองต่อวัคซีน (ภาพที่ 8) พบว่ากลุ่มที่ได้รับวัคซีน มีการตอบสนองต่อวัคซีนในช่วงอายุ 1–16 สัปดาห์เป็นไปตามทฤษฎีการตอบสนองด้านภูมิคุ้มกันแบบปฐมภูมิ และ ทุติยภูมิ (โสมทัต, 2536)

การที่ช่วงอายุดังกล่าวเป็นไปตามทฤษฎี เพราะการตอบสนองแบบปฐมภูมิ (primary response) นั้นเป็นการตอบสนองต่อการได้รับแอนติเจนเป็นครั้งแรกของร่างกาย และเริ่มสร้างแอนติบอดีออกมาสู่กระแสโลหิต แอนติบอดีที่เกิดขึ้นจะมีปริมาณน้อยกว่าการตอบสนองแบบทุติยภูมิ และเมื่อสัตว์ได้รับแอนติเจนตัวเดิมอีกครั้ง ร่างกายจะตอบสนองต่อแอนติเจนได้เร็วกว่าครั้งแรกเนื่องจากมี memory cell ในการจดจำลักษณะของแอนติเจน ในการตอบสนองครั้งที่สองนี้ร่างกายจะสร้างแอนติบอดีได้ปริมาณมากกว่าครั้งแรก ซึ่งการสร้างแอนติบอดีในครั้งนี้เรียกว่าการตอบสนองทุติยภูมิ (secondary response) แอนติบอดีในครั้งนี้จะอยู่ได้นานกว่าครั้งแรก (โสมทัต, 2536 ; กฤษณา, 2548) ซึ่งจะเห็นได้จากข้อมูลดังนี้

เมื่อไก่มีอายุ 3 สัปดาห์ (หลังจากได้รับวัคซีนแล้ว 2 สัปดาห์) กลุ่มที่ได้รับวัคซีนมีค่า LOG_{10}TITER เพิ่มสูงขึ้น แต่ก็ยังไม่สูงมากนัก เพราะเป็นการตอบสนองแบบปฐมภูมิ (primary response) (โสมทัต, 2538 ; กฤษณา, 2548) ส่วนที่อายุ 4 สัปดาห์ (หลังจากได้รับวัคซีนครั้งที่ 2 เป็นเวลา 1 สัปดาห์) เป็นการตอบสนองแบบทุติยภูมิ ไก่ชีมีการตอบสนองต่อวัคซีนได้รวดเร็วและมีไตเตอร์อยู่ในระดับที่สูงกว่าการได้รับวัคซีนในครั้งแรกอย่างชัดเจน (P<0.05) (กฤษณา, 2548) เช่น

เดียวกับที่อายุ 5 สัปดาห์ (หลังจากได้รับวัคซีนครั้งที่ 2 เป็นเวลา 2 สัปดาห์) ไก่ชียังคงมีไตเตอร์สูงกว่าช่วงอายุ 3 สัปดาห์ แต่ไตเตอร์จะลดลงจากสัปดาห์ก่อน เพราะเป็นระยะที่เรียกว่า decline phase (โสมทัต, 2538) ส่วนที่อายุ 7 สัปดาห์ (หลังจากได้รับวัคซีนครั้งที่ 2 เป็นเวลา 4 สัปดาห์) ในช่วงอายุนี้ระดับไตเตอร์ควรลดลงอย่างช้าๆ จากอายุ 5 สัปดาห์ แต่กลับพบว่า มีระดับไตเตอร์ที่เพิ่มสูงขึ้น เหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องจากว่าวัคซีนที่ใช้ในการทดลองเป็นวัคซีนเชื้อเป็น (live attenuated vaccine) ที่เตรียมมาจากเชื้อพิษที่ลดความรุนแรงลง (attenuation) จนไม่ทำให้เกิดโรคในผู้รับ เชื้อชนิดนี้สามารถแพร่ขยายเพิ่มปริมาณได้ในผู้รับ (โสมทัต, 2538) นั่นน่าจะแสดงให้เห็นว่าในช่วงเวลาดังกล่าวอาจมีการได้รับเชื้อซ้ำ จึงเป็นการกระตุ้นให้ไก่สร้างแอนติบอดีขึ้นมาจึงเป็นการตอบสนองแบบทุติยภูมิอีกครั้งหนึ่ง และวัดระดับแอนติบอดีอีกครั้งที่อายุ 16 สัปดาห์ (หลังจากได้รับวัคซีนครั้งที่ 3 เป็นเวลา 3 สัปดาห์) ระดับแอนติบอดีไม่มีความแตกต่าง (P>0.05) กับที่อายุ 7 สัปดาห์ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการทำวัคซีนครั้งที่สาม ยังคงช่วยรักษาระดับแอนติบอดีไตเตอร์ ให้อยู่ในระดับที่สามารถป้องกันโรคได้ (อยู่เหนือเส้น cut off value) จึงสอดคล้องกับทฤษฎีการตอบสนองด้านภูมิคุ้มกันแบบทุติยภูมิ (กฤษณา, 2548)

ส่วนไก่กลุ่มที่ไม่ได้รับวัคซีน ไม่มีไตเตอร์ในระดับที่สามารถป้องกันโรคได้ เพราะภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากแม่นั้นหมดลง จนไม่สามารถวัดระดับของแอนติบอดีในรูปของไตเตอร์ได้

5.3 อัตราพันธุกรรมของการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ลาโซตา

อัตราพันธุกรรมของการสร้างภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลในไก่พื้นเมืองไทย พันธุ์ชี ที่อายุ 7 สัปดาห์ โดยประมาณจากความแปรปรวนที่เกิดจากตัวสัตว์เอง (Animal model) ที่เลี้ยงภายใต้สภาพการจัดการของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ จังหวัดขอนแก่น มีค่าอัตราพันธุกรรม (± SE) เท่ากับ 0.02 (±0.05) ซึ่งถือว่าเป็นค่าอัตราพันธุกรรมที่อยู่ในช่วงของงานวิจัยอื่นๆ ที่ได้ศึกษามาในด้านของการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคนิวคาสเซิล ที่มีค่าอัตราพันธุกรรมอยู่ในช่วง 0-0.77 (Peleg *et al.*, 1976 ; Reta *et al.*, 1963 ; Soller *et al.*, 1981 ; Van der Zijpp, 1984 ; Takahashi *et al.*, 1984 ; Gyles *et al.*, 1986 ; Sacco *et al.*, 1994 ; จารึก, 2534 และ อำนวย และคณะ, 2541)

จากค่าอัตราพันธุกรรมที่ประมาณได้ในการศึกษาครั้งนี้ แสดงให้เห็นว่า อิทธิพลของพันธุกรรมแบบบวกสะสม (additive gene effect) มีส่วนเกี่ยวข้องกับลักษณะการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล เพียง 2 เปอร์เซ็นต์ ส่วนอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมรวมถึงพันธุกรรมแบบ dominant และ epistatic นั้นมีถึง 98 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งอิทธิพลขึ้นอยู่กับสิ่งแวดล้อมเป็นส่วนใหญ่ นี้จะทำให้การปรับปรุงลักษณะทางพันธุกรรมมีความก้าวหน้าช้า จำเป็นต้องปรับปรุงเรื่องอาหาร

การเลี้ยงดู และการป้องกันโรค เป็นประการแรก ส่วนการปรับปรุงพันธุ์อาจทำแบบค่อยเป็นค่อยไปร่วมกับวิธีการเลี้ยงดูและการจัดการสัตว์ แต่ถ้ากรณีที่ลักษณะหนึ่งสามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมได้ตั้งแต่ปานกลางถึงสูงมาก คืออยู่ภายใต้อิทธิพลของพันธุกรรมตั้งแต่ร้อยละ 25 ขึ้นไป การปรับปรุงทางพันธุกรรมของลักษณะนั้นจะก่อให้เกิดประโยชน์ในการปรับปรุงในลักษณะนั้นอย่างคุ้มค่า (จรัญ, 2526 ; สมจิตต์, 2530) ดังนั้น ไก่ชีฝูงนี้น่าจะมีการปรับปรุงด้านสภาพแวดล้อมมากกว่าการปรับปรุงพันธุ์ในลักษณะของการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลต่อไป

เมื่อพิจารณาค่า standard error ของอัตราพันธุกรรมของการสร้างแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล ที่อายุ 7 สัปดาห์ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ค่าประเมินเท่ากับ 250 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับงานของ Takahashi และคณะ (1984) ค่า standard error ของอัตราพันธุกรรม คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ค่าประเมินเท่ากับ 416 เปอร์เซ็นต์ ส่วน จารึก (2534) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ค่าประเมินเท่ากับ 37 เปอร์เซ็นต์ จึงเห็นได้ว่าค่า standard error ของงานทดลองในครั้งนี้มีค่าสูง เช่นเดียวกับงานของ Takahashi และคณะ (1984) ที่ใช้นกกระทา 132 ตัว เนื่องจากว่าในการทดลองครั้งนี้ใช้ไก่ในการศึกษาจำนวนน้อย (475 ตัว) แต่เมื่อเทียบกับงานของ จารึก (2534) พบว่ามีค่าต่ำมากทั้งนี้เกิดจากจารึกใช้ไก่ในการทดลองเป็นจำนวนมาก (1,800 ตัว) ดังนั้นจึงเห็นได้ว่าการประเมินค่าอัตราพันธุกรรมนั้นจะต้องใช้สัตว์ทดลองเป็นจำนวนมาก ถึงจะทำให้ค่า standard error มีค่าต่ำลง

ดังนั้นค่าอัตราพันธุกรรมที่ประเมินได้จากการศึกษาในครั้งนี้ยังไม่เหมาะที่จะนำไปใช้ประโยชน์ในการคัดเลือกตัวสัตว์เพราะจะทำให้การคัดเลือกผิดพลาดได้ เนื่องจากมีค่า standard error ที่สูงอยู่ จึงควรที่จะพิจารณาให้รอบคอบเสียก่อน ส่วนค่าอัตราพันธุกรรมที่ประเมินได้นี้เป็นค่าประจำฝูงของไก่ชี ที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ จังหวัดขอนแก่น และสามารถที่จะใช้เปรียบเทียบกับฝูงอื่นๆ ได้ เนื่องจากว่า BLUP สามารถประมาณค่าของอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยคงที่ เช่น ฝูง ปีเกิด ฤดูกาล เพศ อายุแม่ เป็นต้น พร้อมกับการประมาณค่าอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยสุ่ม เช่น ค่าพันธุกรรม ค่าสภาพแวดล้อมถาวร เป็นต้น ทำให้ค่าพันธุกรรมจากสัตว์ที่ประเมินมีการปรับด้วยอิทธิพลเหล่านั้นสามารถใช้เปรียบเทียบต่างฝูงหรือปีเกิดต่างกันได้ ซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในงานประเมินพันธุกรรมสัตว์ที่ต้องมีการเปรียบเทียบพันธุกรรมจากหลายฝูง (มนต์ชัย, 2548)

บทที่ 6
สรุปและข้อเสนอแนะ

6.1 สรุป

6.1.1 ควรใช้วัคซีนนิวคาสเซิล เสตรนลาโซตา ตามโปรแกรมวัคซีนที่กรมปศุสัตว์แนะนำ เพื่อเป็นการป้องกันโรคนิวคาสเซิลในไก่ชีเพราะป้องกันโรคได้ถึง 86.67 เปอร์เซ็นต์ ในช่วงอายุ 1-16 สัปดาห์ ทั้งนี้ต้องมีการกระตุ้นวัคซีนครั้งที่สอง ตามระยะเวลาที่กำหนด

6.1.2 ควรที่จะเน้นด้านการจัดการสภาพแวดล้อมมากกว่าการปรับปรุงพันธุ์ด้านการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิล เพราะพันธุกรรมมีส่วนเกี่ยวข้องกับการสร้างแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลของไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี ที่เลี้ยงภายใต้สภาพการจัดการของศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ จังหวัดขอนแก่น มีค่าอัตราพันธุกรรมต่ำ (0.02) และมีค่า standard error สูง (0.05)

6.2 ข้อเสนอแนะ

6.2.1 ควรมีการให้เชื้อพิษนิวคาสเซิลหลังจากได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล สเตรนลาโซตา เพื่อตรวจสอบผลความต้านทานโรคนิวคาสเซิลในไก่ชีอย่างแท้จริง เพราะการทดลองครั้งนี้ใช้ค่า cut off value ($LOG_{10}TITER \geq 2.53$) ซึ่งเป็นค่าเฉพาะของชุดตรวจสอบของบริษัท Synbiotics Corporation, USA (2006) ซึ่งได้จากฝูงที่มีการจัดการแตกต่างกัน

6.2.2 ควรที่จะแยกไก่กลุ่มที่ได้รับ และไม่ได้รับวัคซีน ให้อยู่คนละโรงเรือนในการทดลองครั้งต่อไป เพื่อป้องกันการแพร่เชื้อระหว่างคอก เนื่องจากวัคซีนที่ใช้ในการทดลองเป็นวัคซีนเชื้อเป็น ซึ่งไก่สามารถที่จะขับออกนอกร่างกายและถูกกระแสลมพัดพาไปสู่กลุ่มควบคุมได้

เอกสารอ้างอิง

เอกสารอ้างอิง

กนก ผลารักษ์. 2521. การปรับปรุงพันธุ์สัตว์เบื้องต้น. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

กรมปศุสัตว์. "บทบาทวัคซีนสัตว์ต่อการปศุสัตว์ไทย", บทความที่น่าสนใจ. http://www.dld.go.th/biologic/research/bodbat_1.pdf. เมษายน, 2550.

กฤษณา จรรยาพูน. 2548. พื้นฐานการทดสอบทางวิทยาภูมิคุ้มกัน. พิมพ์ครั้งที่ 1 โรงพิมพ์แอนนา ออฟเซต : ขอนแก่น.

เกรียงไกร โชประการ และคณะ. 2543. ไก่พื้นเมืองและไก่ลูกผสมพื้นเมือง : อดีตและปัจจุบัน. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย : กรุงเทพฯ.

เกรียงศักดิ์ พูนสุข. 2536. โรคติดเชื้อในไก่. คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย : กรุงเทพฯ.

จรัญ จันทลักขณา. 2516. หลักการปรับปรุงพันธุ์ปศุสัตว์. ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ : กรุงเทพฯ.

_____. 2526. การพัฒนาปศุสัตว์เพื่อชนบท. ชุดความรู้เฉพาะอันดับ 2. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

_____. 2534. สถิติวิธีวิเคราะห์และวางแผนงานวิจัย. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์. ไทยวัฒนาพานิช : กรุงเทพฯ.

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

จำเรียง อรวรรณนุกูล และสุนีจิต คงทน. 2540. การศึกษาระดับแอนติบอดีต่อไวรัสนิวคาสเซิลและไวรัสกัมโบโรในไก่เนื้อ. วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข, ปีที่ 7 ฉบับที่ 1 ม.ค.- มิ.ย. : 25–30.

เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล และบัญญัติ เหล่าไพบูลย์. 2525. การศึกษาความต้านทานโรคของไก่พื้นเมือง 2. ความต้านทานต่อโรคนิวคาสเซิล. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

_____. 2528. การสร้างภูมิคุ้มกันในไก่พื้นเมืองที่เลี้ยงในหมู่บ้านและให้วัคซีนนิวคาสเซิล. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล, บัญญัติ เหล่าไพบูลย์ และประยูร อุดมเสียง. 2530. การปรับปรุงการเลี้ยงไก่ในชนบท. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น : ขอนแก่น.

เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล, มาณวิกา กรโกวิท และพรทิพย์ ศิริวรรณ์. 2524. โรคของไก่พื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. ประมวลเรื่องวิจัย การประชุมทางวิชาการสัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย, ครั้งที่ 8 ณ บ้านมนังคศิลา กรุงเทพฯ วันที่ 1-2 ตุลาคม 2524 : 100-105.

เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล. 2526. อภิปรายปัญหาอุปสรรคและแนวทางแก้ไขการเลี้ยงไก่พื้นเมือง. รายงานการประชุมสัมมนาการเกษตรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เรื่องไก่พื้นเมือง ครั้งที่ 1. ณ สำนักงานเกษตรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. ท่าพระ ขอนแก่น. 19-21 กรกฎาคม 2526. : 170-176.

_____. 2529. การตอบสนองในการสร้างภูมิคุ้มกันในไก่พื้นเมืองไก่ลูกผสมพื้นเมือง 50% หลังจากให้วัคซีนนิวคาสเซิล. วารสารแก่นเกษตร, 14(3) : 151-155.

_____. 2529. โรคสัตว์ปีก. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

นภาธร บานชื่น. "คอมพลีเมนต์", ใน อิมมูโนวิทยา. สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ บรรณาธิการ. 64-89. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ : พีพีเอส ซายน์เทคนิคัล, 2543.

ประพันธ์ ภานุภาค. 2527. วิทยาภูมิคุ้มกัน. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย : กรุงเทพฯ.

พน นิลผึ้ง. 2542. คัมภีร์ไก่ชน ฉบับปรับปรุง. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โฟว์อิดิเตอร์.

พรชุลีย์ นิลวิเศษ และคณะ. 2545. วิทยาศาสตร์สุขภาพสัตว์. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช : หน้า 150-190.

ไพศาล เหล่าสุวรรณ. 2540. สถิติเพื่อการวิจัยและวางแผนการทดลอง. สำนักเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี : นครราชสีมา.

มนต์ชัย ดวงจินดา. 2548. การประเมินพันธุกรรมสัตว์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วุฒิพงษ์ อินทรธรรม, เกรียงเดช สำแดง และ อัญชลี ณ เชียงใหม่. 2543. การปรับปรุงพันธุกรรมของสัตว์ในเขตร้อน. ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์ท่าพระ กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ : กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สมจิตต์ ยอดเศรณี. 2530. การคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์สัตว์. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ : มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

สมชัย จันทร์สว่าง. 2530. การปรับปรุงพันธุ์สัตว์. ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตรศาสตร์ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ : กรุงเทพฯ.

สารกิจ ถวิลประวัติ. 2546. ลักษณะและมาตรฐานไก่พื้นเมืองไทย. กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์ : กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สุชน ตั้งทวีวิพัฒน์. 2542. การจัดการผลิตสัตว์ปีก. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ และคณะ. 2543. อิมมูโนวิทยา. เขตบางกอกน้อย กรุงเทพฯ : บริษัทพีพีเอส ซายน์เทคนิคัล จำกัด.

สุทธิพันธ์ สาระสมบัติ. 2529. อิมมูโนวิทยา. กรุงเทพมหานคร : โรงพิมพ์อักษรสมัย (คอมพิวเตอร์ กราฟฟิค).

โสมทัต วงศ์สว่าง. 2538. วิทยาภูมิคุ้มกันทางสัตวแพทย์. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อภิชัย รัตนวราหะ. 2534. ไก่พื้นเมืองในระดับไร่นาสวนผสม. สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้ : เชียงใหม่.

อำนวย เลี้ยวธารากุล, ศิริพันธ์ โมราถบ และ สันติสุข ดวงจันทร์. 2541. การคัดเลือกและปรับปรุงพันธุ์ไก่พื้นเมืองที่สร้างภูมิคุ้มกันตอบสนองต่อโรคนิวคาสเซิล. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36, กรุงเทพฯ.

อำนวย เลี้ยวธารากุล, สมควร ปัญญาวีร์ และสันติสุข ดวงจันทร์. 2539. น้ำหนักตัว อัตราการเจริญเติบโตและอัตราการตายของลูกไก่พื้นเมืองที่เกิดจากพ่อ-แม่พันธุ์ ที่มีภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิลสูงและต่ำ. วารสารเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 12 (1) : 65–73.

อุดมศรี อินทรโชติ และคณะ. 2549. การสร้างฝูงพันธุ์ไก่พื้นเมือง 4 พันธุ์ (ประดู่หางดำ เหลืองหางขาว แดง และชี). รายงานความก้าวหน้า ฉบับที่ 3.

อุปถัมภ์ สุขา. 2546. ระบบภูมิคุ้มกัน. [http://202.129.0.133/createweb/00000//00000-2550.html]. พฤศจิกายน, 2548.

Adriaan Olivier. 2004. Newcastle disease. Department of agriculture, South Africa.

Alexander, D J. 2001. Gordon Memorial Lecture. Newcastle disease. Br.Poult.Sci. 42(1): 5-22.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Alexander, D.J., J.G. Bell and R.G. Alders. 2004. Technology review: Newcastle disease with special emphasis on its effect on village chickens. FAO animal production and health.

Ambrosius, D.J. and D. Hadge. 1987. Chicken immunoglobulins. Vet. Immunol. Immunopathol. 17: 57-67.

Anonymous. 1991. The Human Body and Immunity. www.ups.edu/.../SCXT310/Immunity/immunity.htm. Jan 2006.

Barman Lalita Rani. 2002. An epidemiological and experimental study of Newcastle Disease Virus in Village chickens of Bangladesh. www.poultry.kvl.dk-research. Jan 2006.

Crowther John, R. 1995. In : ELISA theory and Practice. Humana Press. Totowa. New Jersey. 131-149.

Dorf, M.E. (Ed.). 1981. The role of the Major Histocompatibility Complex in Immunobiology. Garland Press, New York.

Flensburg, M.F. 2001. Epidemiological Evaluation of Viral Disease in the Danish Broiler Chicken Production using the Example of Infectious Bursal Disease and Newcastle Disease. Ph.D. Thesis pp. 47-48.

Glick B. 2000. Immunophysiology. 5th ed. pp. 657-667.

Gyles, N.R. et al. 1986. Genetic aspects of antibody response in chicken to different classes of antigen. Poultry Science. 65: 223-232.

Halvorson, D.A. et al. 1991. Serological response in broiler chicken to different commercial Newcastle disease and infectious bronchitis vaccines. Avian Dis. 35: 978–981.

Hanson, R.P. 1978. Newcastle Disease. In: Diseases of Poultry. 7 th Edition. Lowa state University Press/ AMES, IOWA. USA.: 513–535.

Hassan, M.K., M.A. Afify and M.M. Aly. 2004. Genetic Resistance of Egyptian Chickens to Infectious Bursal Disease and Newcastle Disease. Tropical Animal Health and Production. 36: 1–9.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Hassanzadeh, M. and M.H. Bozorgmeri Fard. 2004. A Serological Study of Newcastle Disease in Pre- and Post-Vaccinated Village Chickens in North of Iran. Poultry Science. 3 (10): 658-661.

Leitner, G. et al. 1994. Parental effect on the humoral innune response to *Escherichia coli* and Newcastle Disease Virus in young broiler chicks. Poultry science. 73: 1534 – 1541.

Little, K.S. et al. 1988. A Study of breeder vaccination programes and problems in the broiler progeny in Saskatchewan Utilizing Enzyme- Linked Immunosorbent Assay. Avian Dis. 32: 114–120.

Majiyagbe, K.A. and S.B. Hitchner. 1977. Antibody response to strain combination of Newcastle disease virus as measured by Hemaglutination Inhibition. Avian Disease. 21 (4): 578–585.

Marguardt, W.W. et al. 1979. An Indirect Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) for measuring antibodies in chickens Infected with Infections bursal disease virus. Avian Dise. 24 (2): 375-385.

Muhammad, S. et al. 2006. Humoral immune response to Newcastle disease vaccine (Lasota strain) in broilers. Poultry science. 5 (5): 411–414.

Naila, C. et al. 2001. Prevalence and Economic Ramification of Newcastle Diseasein Backyard Chicken in Charsadda. NWFP, Pakistan. Journal of Biological Sciences 1 (5): 421-424.

OIE, 1996. Newcastle Disease. Chap. 2.1.15: 161-169.

OIE. 2005. Newcastle disease. Institute for International Cooperation in Animal Biologics.

Peleg, B.A. et al. 1976. Familial differences in antibody response of broiler chickens to vaccination with attenuated and inactivated Newcastle disease virus vaccine. Avian Disease. 20: 661.

Peleg, B.A., Nili Ron-Kuper and K. Hornstein. 1981. Immune Response to Newcastle Disease Virus Vaccine, Fowl-Pox Vaccine and *Escherichia coli* Vaccine in Bedouin and White Leghorn chickens. Poultry Science. 60: 34-37.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Pirchner, F. 1969. Population genetics in animal breeding. W.H. Freeman and Co. San Francisco.

Rahman, M.B. et al. 2004. Efficacy of V_4HR Newcastle disease (V_4HR-ND) Vaccine in broiler birds in Bangladesh. Poultry Science 3 (5): 365-368.

Rahman, M.M. et al. 2002. Evaluation of Matermal and Humoral Immunity against Newcastle Disease Virus in Chicken. Poultry Science 1 (5): 161–163.

Reta, G., B.B. Bohren and M.E. Moses. 1963. Sire and dam effects on hemagglutination titers in avian eggs following inoculation with Newcastle disease virus. Poutry Science 42: 1182-1187.

Rivetz, B.Y. et al. 1985. Evaluation of a Novel Rapid Kit for the visual detection of Newcastle disease virus antibodies. Accepted for Publication in Avian Disease. Apr. 29, 1985.

Sacco, R.E. et al. 1994. Genetic analysis of antibody responses of turkeys to Newcastle disease virus and *Pasteurella multocida* vaccines. Poultry Science. 73 (8): 1169–1174.

Scheirman, L.W. and A.W. Nordskog. 1961. Relationship of blood type to histocompatibility in chickens. Science. 134: 1008.

Seal, B.S., D.J. King and H.S. Sellers. 1999. The avian response to Newcastle disease virus. Dev. Comp. Immunol. 24(2-3): 257-268.

Sharma, J.M. and K.A. Schat. 1999. Natural Immune Functions. 4: 51-70.

Soller, M. et al. 1981. Genetic and phenotypic correlations between innune response to *Escherichia coli* and Newcastle disease virus vaccine. Poultry science. 60: 49–53.

Spradbrow, P.B. 2004. Appropriate vaccination and therapies for rural poultry flocks in developing countries and their relevance to developed countries. 22th World's Poultry Congress. June 8–13. Istanbul. Turkey.

Synbiotics Corporation. 2006. Poultry Health Management Manual.

Takahashi, S., S. Inooka and Y. Mizuma. 1984. Selective Breeding for High and Low Antibody Responses to Inactivated Newcastle Disease Virus in Japanese Quails. Poultry Science. 63: 595–599.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Tran Dinh Tu. 2000. Village chicken production in Vietnam and Newcastle disease control with thermostable vaccine. National veterinary company. 110–114.

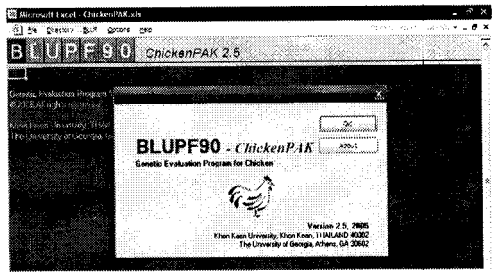
Van der Zijpp, A.J.. 1984. Breeding for immune responsiveness and disease resistance in poultry. Proc. 33rd Annu. Natl. Poul. Breeders Round table, St. Louis.

Vui, Tran Quang et al. 2002. Antibody Levels against Newcastle Disease Virus, Infectious Bursal Disease Virus and Avian Influenza Virus in Rural Chickens in Viet Nam. Poultry Science 1 (5): 127–132.

ภาคผนวก

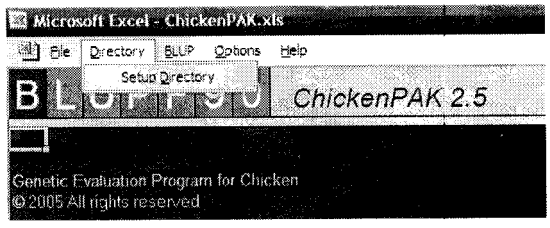
1. การประเมินค่าอัตราพันธุกรรมโดยใช้โปรแกรม BLUP

1.1 เปิดโปรแกรม BLUPF90 - ChickenPAK 2.5 แล้วปรากฏหน้าจอ ดังภาพที่ 10



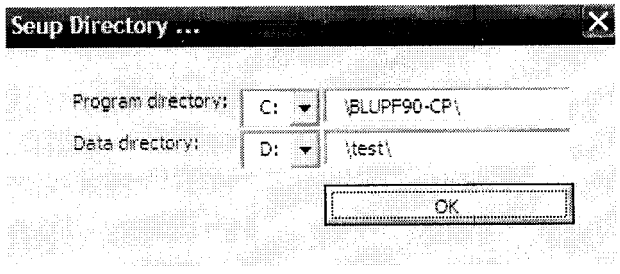
ภาพที่ 10 หน้าแรกของโปรแกรม BLUPF90 - ChickenPAK 2.5

1.2 หลังจากเลือกกด OK จากภาพที่ 10 แล้วเลือกคำสั่ง Directory บนแถบเมนูเพื่อเลือกคำสั่งย่อย Setup Directory ดังภาพที่ 11



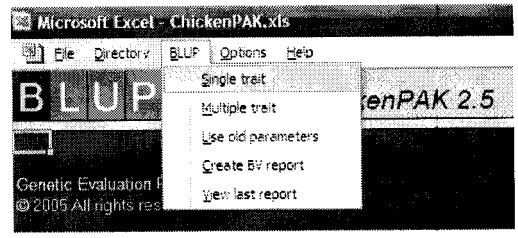
ภาพที่ 11 การเลือกคำสั่ง Directory และคำสั่งย่อย Setup Directory

1.3 ใส่ชื่อโฟลเดอร์ของโปรแกรม BLUP ที่มีชื่อว่า BLUPF90-CP ที่อยู่ในไดร์ฟ C และโฟลเดอร์ของข้อมูลที่มีชื่อว่า test ที่อยู่ในไดร์ฟ D ใน Setup directory แล้วกด OK ดังภาพที่ 12



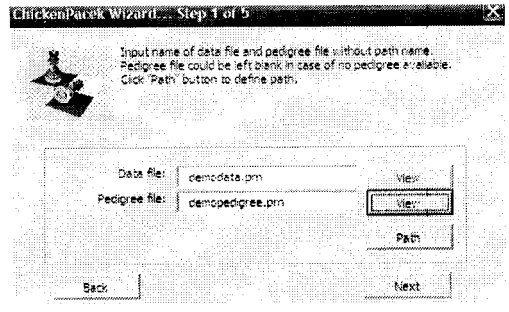
ภาพที่ 12 Setup directory

1.4 เลือกคำสั่ง BLUP และเลือกคำสั่งย่อย single trait ดังภาพที่ 13



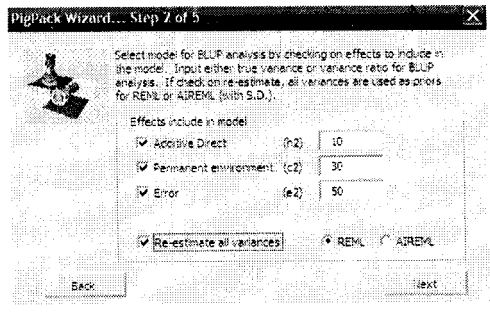
ภาพที่ 13 การเลือกคำสั่ง BLUP และคำสั่งย่อย single trait

1.5 หลังจากเลือกคำสั่งย่อย single trait จะปรากฏกล่องข้อความ ChickenPacek Wizard...Step 1 of 5 แล้วใส่ชื่อ Data file และชื่อ Pedigree file ที่บันทึกไว้เรียบร้อยแล้ว แล้วกด Next ดังภาพที่ 14



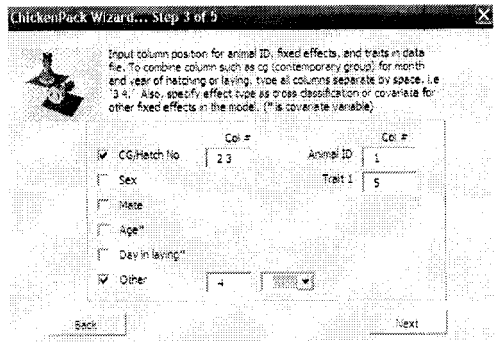
ภาพที่ 14 กล่องข้อความ ChickenPacek Wizard...Step 1 of 5

1.6 จะปรากฏกล่องข้อความ Step 2 of 5 แล้วเติมค่าความแปรปรวนที่คาดว่าจะเกิดขึ้น และเลือกคำสั่งให้ครบ แล้วกด Next ดังภาพที่ 15



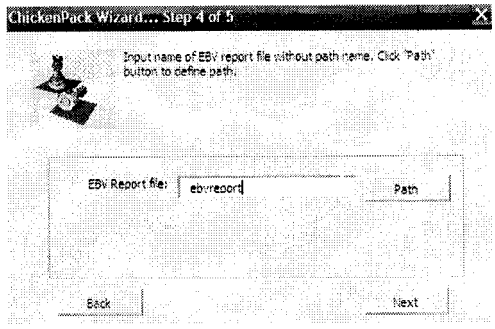
ภาพที่ 15 กล่องข้อความ ChickenPacek Wizard...Step 2 of 5

1.7 จะปรากฏกล่องข้อความ Step 3 of 5 เพื่อใส่หมายเลขคอลัมน์ ที่อยู่ในไฟล์ข้อมูล ตามลักษณะที่จะวิเคราะห์ แล้วกด Next ดังภาพที่ 16



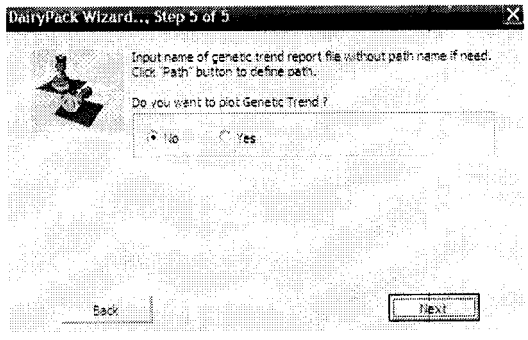
ภาพที่ 16 กล่องข้อความ ChickenPacek Wizard…Step 3 of 5

1.8 จะปรากฏกล่องข้อความ Step 4 of 5 เพื่อใส่ชื่อไฟล์ EBV แล้วกด Next ดังภาพที่ 17



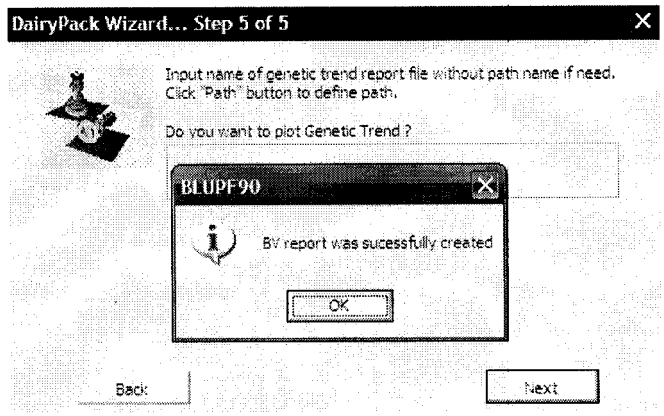
ภาพที่ 17 กล่องข้อความ ChickenPacek Wizard…Step 4 of 5

1.9 จะปรากฏกล่องข้อความ Step 5 of 5 แล้วเลือกคำสั่งดังภาพที่ 18 แล้วกด Next



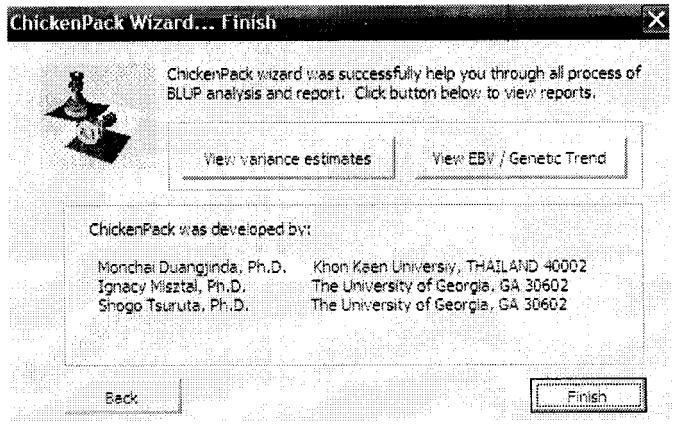
ภาพที่ 18 กล่องข้อความ ChickenPacek Wizard…Step 5 of 5

1.10 จะปรากฏกล่องข้อความ BLUPF90 รายงานผลการวิเคราะห์ ค่า EBV ที่สมบูรณ์ ใน Step 5 of 5 ดังภาพที่ 19 แล้วกด OK

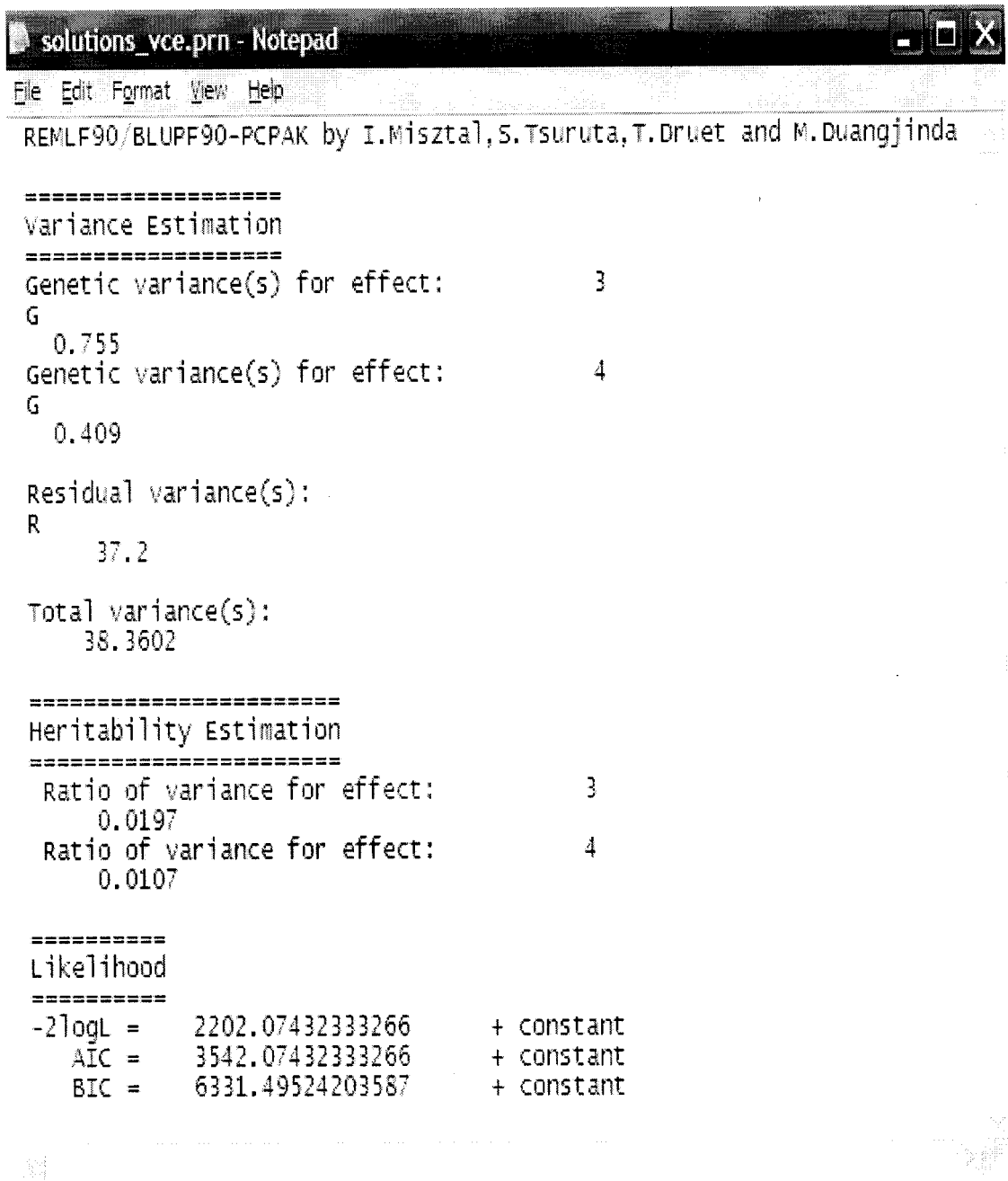


ภาพที่ 19 กล่องข้อความ BLUPF90

1.11 จะปรากฏกล่องข้อความ ChickenPack Wizard...Finish ดังภาพที่ 20 แล้วกดปุ่ม view variance estimates เพื่อดูผลการประเมินค่าอัตราพันธุกรรมที่แสดงในภาพที่ 21



ภาพที่ 20 กล่องข้อความ ChickenPack Wizard...Finish



solutions_vce.prn - Notepad

File Edit Format View Help

```
REMLF90/BLUPF90-PCPAK by I.Misztal,S.Tsuruta,T.Druet and M.Duangjinda

====================
Variance Estimation
====================
Genetic variance(s) for effect:          3
G
  0.755
Genetic variance(s) for effect:          4
G
  0.409

Residual variance(s):
R
     37.2

Total variance(s):
    38.3602

=======================
Heritability Estimation
=======================
 Ratio of variance for effect:           3
     0.0197
 Ratio of variance for effect:           4
     0.0107

==========
Likelihood
==========
-2logL =    2202.07432333266      + constant
   AIC =    3542.07432333266      + constant
   BIC =    6331.49524203587      + constant
```

ภาพที่ 21 ผลการประเมินค่าอัตราพันธุกรรม

2. ผลการวิเคราะห์ t-test

2.1 ผลการวิเคราะห์ t-test เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ไม่ได้รับ (T1) และได้รับวัคซีน (T2) ที่อายุ 1 สัปดาห์

TTEST PROCEDURE

Variable: TITER

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error
T1	30	1.27633333	1.26634005	0.23120100
T2	30	1.79533333	0.90662213	0.16552580

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	-1.8252	52.5	0.0737
Equal	-1.8252	58.0	0.0731

For H0: Variances are equal, F' = 1.95 DF = (29,29)
Prob>F' = 0.0771

2.2 ผลการวิเคราะห์ t-test เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ไม่ได้รับ (T1) และได้รับวัคซีน (T2) ที่อายุ 3 สัปดาห์

TTEST PROCEDURE

Variable: TITER

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error
T1	30	0.00000E+00	0.00000E+00	0.00000E+00
T2	30	1.89867E+00	1.40589E+00	2.56678E-01

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	-7.3971	29.0	0.0001
Equal	-7.3971	58.0	0.0000

NOTE: All values are the same for one CLASS level.

2.3 ผลการวิเคราะห์ t-test เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ไม่ได้รับ (T1) และได้รับวัคซีน (T2) ที่อายุ 4 สัปดาห์

TTEST PROCEDURE

Variable: TITER

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error
T1	30	0.52433333	0.84207741	0.15374160
T2	30	3.08300000	0.80744446	0.14741851

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	-12.0126	57.9	0.0001
Equal	-12.0126	58.0	0.0000

For H0: Variances are equal, F' = 1.09 DF = (29,29)
Prob>F' = 0.8226

2.4 ผลการวิเคราะห์ t-test เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ไม่ได้รับ (T1) และได้รับวัคซีน (T2) ที่อายุ 5 สัปดาห์

TTEST PROCEDURE

Variable: TITER

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error
T1	30	0.72200000	0.96758997	0.17665695
T2	30	2.89966667	1.03470963	0.18891127

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	-8.4197	57.7	0.0001
Equal	-8.4197	58.0	0.0000

For H0: Variances are equal, F' = 1.14 DF = (29,29)
Prob>F' = 0.7204

2.5 ผลการวิเคราะห์ t-test เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ไม่ได้รับ (T1) และได้รับวัคซีน (T2) ที่อายุ 7 สัปดาห์

TTEST PROCEDURE

Variable: TITER

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error
T1	30	0.96433333	1.33392003	0.24353936
T2	30	3.16666667	0.49467045	0.09031405

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	-8.4788	36.8	0.0001
Equal	-8.4788	58.0	0.0000

For H0: Variances are equal, F' = 7.27 DF = (29,29)
Prob>F' = 0.0000

2.6 ผลการวิเคราะห์ t-test เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ไม่ได้รับ (T1) และได้รับวัคซีน (T2) ที่อายุ 16 สัปดาห์

TTEST PROCEDURE

Variable: TITER

TRT	N	Mean	Std Dev	Std Error
T1	30	2.06166667	0.71466936	0.13048018
T2	30	2.67766667	0.79614019	0.14535465

Variances	T	DF	Prob>|T|
Unequal	-3.1537	57.3	0.0026
Equal	-3.1537	58.0	0.0026

For H0: Variances are equal, F' = 1.24 DF = (29,29)
Prob>F' = 0.5647

3. ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance)

3.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ค่า LOG_{10}TITER ของไก่กลุ่มที่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล ลาโซตา ที่อายุ 1, 3, 4, 5, 7 และ 16 สัปดาห์

Analysis of Variance

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	5	53.6564717	10.7312943	11.92	0.0001
Error	174	156.5886233	0.8999346		
Corrected Total	179	210.2450950			

R-Square	C.V.	Root MSE	TITER Mean
0.255209	36.67221	0.94865	2.58683

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
AGE	5	53.6564717	10.7312943	11.92	0.0001

3.2 ผลการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยค่า LOG_{10}TITER ในแต่ละช่วงอายุของไก่กลุ่มที่ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิล ลาโซตา โดยวิธี Duncan's Multiple Rang Test (DMRT)

Duncan's Multiple Range Test for variable: LOG_{10}TITER

Alpha= 0.05 df= 174 MSE= 0.899935
Number of Means 2 3 4 5 6
Critical Range .4834 .5089 .5258 .5383 .5480

Means with the same letter are not significantly different.

Duncan Grouping	Mean	N	AGE (weeks)
A	3.1667	30	7
A	3.0830	30	5
A	2.8997	30	4
A	2.6777	30	16
B	1.8987	30	3
B	1.7953	30	1

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	นางสาวหนึ่งฤทัย พรหมวาที
วัน/ เดือน/ ปีเกิด	26 มิถุนายน 2525
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาสัตวศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ปีการศึกษา 2547
ประวัติงานวิจัย	ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) เรื่อง ระดับแอนติบอดีที่ตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลในไก่พื้นเมืองไทยพันธุ์ชี ปี พ.ศ. 2548 - 2550
สถานที่ติดต่อได้	6 หมู่ 2 ต. เป๊าะ อ. บึงบูรพ์ จ. ศรีสะเกษ 33220 e-mail: promwatee@yahoo.com