

การศึกษาระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรน 4/91 และสเตรนแมสซาชูเซตส์
ในไก่เนื้อ ในประเทศไทย



นาย ธวัช เล็กดำรงศักดิ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาอายุศาสตร์สัตวปีก ภาควิชาอายุศาสตร์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2544

ISBN 974-03-0221-1

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I 20129476

ANTIBODY TITRES OF STRAIN 4/91 AND STRAIN MASSACHUSETTS
OF INFECTIOUS BRONCHITIS VIRUS IN BROILERS IN THAILAND

THAWAT LEKDUMRONGSAK

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Avian Medicine

Department of Veterinary Medicine

Faculty of Veterinary Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2001

ISBN 974-03-0221-1

นาย ธวัช เล็กดำรงศักดิ์ : การศึกษาระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อ
สเตรน 4/91 และสเตรนแมสซาชูเซตส์ ในไก่เนื้อ ในประเทศไทย (ANTIBODY TITRES
OF STRAIN 4/91 AND STRAIN MASSACHUSETTS OF INFECTIOUS
BRONCHITIS VIRUS IN BROILERS IN THAILAND)

อ.ที่ปรึกษา รศ.น.สพ.ดร. จิโรจ ศศิปรียจันทร์ , อ.ที่ปรึกษาร่วม รศ.น.สพ.ดร. ประจักษ์
พุ่มวิเศษ , ผศ. อัจฉรา ธวัชสิน 49 หน้า. ISBN 974-03-0221-1.

ไก่เนื้ออายุ 1 วัน จำนวน 30 ตัว แบ่งออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 10 ตัว กลุ่มทดลองที่ 1
ให้วัคซีนหลอดลมอักเสบติดต่อเชื้อเป็นซีโรไทป์แมสซาชูเซตส์ สเตรน H120 เมื่ออายุ 1 วัน และ
สเตรนแมสซาชูเซตส์ เมื่ออายุ 10 วัน กลุ่มทดลองที่ 2 ให้วัคซีนหลอดลมอักเสบติดต่อเชื้อเป็น
สเตรนแมสซาชูเซตส์ เมื่ออายุ 10 วัน กลุ่มควบคุมไม่ได้รับวัคซีน ตรวจระดับแอนติบอดีต่อโรค
หลอดลมอักเสบติดต่อสเตรน 4/91 และสเตรนแมสซาชูเซตส์ (M41) ด้วยวิธี virus neutralization
(VN) และระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อ ด้วยวิธีenzyme-linked immunosorbent
assay (ELISA) เมื่อไก่อายุ 1 , 10 , 21 , 28 , 35 และ 42 วัน และตรวจระดับแอนติบอดีจากตัว
อย่างเลือดไก่เนื้อจากฟาร์มที่ให้วัคซีนหลอดลมอักเสบติดต่อเชื้อเป็นซีโรไทป์แมสซาชูเซตส์ สเตรน
H120 และสเตรนแมสซาชูเซตส์ 1-2 ครั้ง จำนวน 4 ฟาร์ม แต่ละฟาร์ม เก็บตัวอย่าง 3 ครั้ง ๆ ละ
10 ตัวอย่าง เมื่อไก่อายุ 28 , 35 และ 42 วัน ผลในไก่ทดลองพบว่าการให้วัคซีนหลอดลมอักเสบ
ติดต่อเชื้อเป็นซีโรไทป์แมสซาชูเซตส์ 2 ครั้ง สามารถกระตุ้นให้ไก่ที่มีแอนติบอดีที่ได้รับจากแม่ไก่
สร้างแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรนแมสซาชูเซตส์ในระดับที่สูงกว่าการให้วัคซีน
เพียงครั้งเดียว และสามารถตรวจพบแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรน 4/91 ด้วยวิธี
VN ได้ในระดับต่ำ ผลในไก่เนื้อจากฟาร์ม 2 แห่งตรวจพบแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบ
ติดต่อสเตรนแมสซาชูเซตส์ และสเตรน 4/91 ด้วยวิธี VN และระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลม
อักเสบติดต่อ ด้วยวิธี ELISA สูงกว่าไก่ทดลอง อาจแสดงถึงการได้รับเชื้อไวรัสหลอดลมอักเสบ
ติดต่อ นอกจากการได้รับวัคซีน และอาจมีการระบาดของเชื้อไวรัสสเตรน 4/91 ในประเทศไทย แต่
ไม่สามารถสรุปได้จากการตรวจทางซีรัมวิทยา

ภาควิชา อายุรศาสตร์

ลายมือชื่อนิสิต *ณส เวศนาอภัย*

สาขาวิชา อายุรศาสตร์สัตว์ปีก

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา *อ.ณส*

ปีการศึกษา 2544

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม *อ.ประจักษ์*

..... *อ.อ.อ.อ.อ.อ.*

4175574531 : MAJOR AVIAN MEDICINE

KEYWORD : ANTIBODY TITRES / 4/91 / MASSACHUSETTS / INFECTIOUS BRONCHITIS
/ BROILERS / THAILAND

THAWAT LEKDUMRONGSAK : ANTIBODY TITRES OF STRAIN 4/91 AND
STRAIN MASSACHUSETTS OF INFECTIOUS BRONCHITIS VIRUS IN
BROILERS IN THAILAND. THESIS ADVISOR : ASSOC.PROF.DR. JIROJ
SASIPREEYAJAN , THESIS COADVISOR : ASSOC.PROF.DR. PRACHAK
POOMVISES , ASST.PROF. ACHARA TAWATSIN , 49 pp. ISBN 974-03-0221-1.

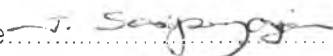
Thirty, 1-day-old broilers were divided into 3 groups , 10 birds of each. Group 1 was vaccinated twice with live infectious bronchitis virus (IBV)-serotype Massachusetts , strain H120 vaccine at 1-day-old and live IBV-strain Massachusetts vaccine at 10-day-old. Group 2 was vaccinated once with live IBV-strain Massachusetts vaccine at 10-day-old. Group 3 was non-vaccinated control. Blood samples were taken from birds at day 1 , 10 , 21 , 28 , 35 and 42. Samples were tested by virus neutralization (VN) test for strain 4/91 and strain Massachusetts (M41) neutralizing antibodies and were tested by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for IBV antibodies. Samples from broiler farms which were vaccinated once or twice with live IBV-serotype Massachusetts , strain H120 and Massachusetts vaccine were tested in the same manner at day 28 , 35 and 42. The results revealed that experimental broilers which were vaccinated twice with serotype Massachusetts vaccine had higher Massachusetts VN titres than broilers which were vaccinated once. Both vaccinated experimental groups had low level of 4/91 VN titers. Samples from 2 broiler farms had level of Massachusetts and 4/91 VN titres and IBV ELISA titres higher than those of the experimental groups. Base on serological observations of this study , broilers from 2 farms may infected with field IBV and it is still questionable whether IBV strain 4/91 outbreaks in Thailand.

Department of Veterinary Medicine

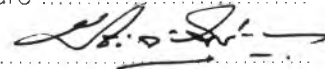
Field of study Avian Medicine

Academic year 2001

Student's signature... 

Advisor's signature... 

Co-advisor's signature







กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ รศ.น.สพ.ดร. คณิศศักดิ์ อรวิระกุล , อ.สพ.ญ. ประวีณา กิตติคุณ

คุณสุมิตรา วัฒนไทร ที่กรุณาให้คำแนะนำและช่วยเหลือในการตรวจ VN

ขอขอบคุณ อ.สพ.ญ. นิภัทรา เทพวัลย์ , น.สพ. รชฎ ตันติเลิศเจริญ

อ.น.สพ. อภิสิทธิ์ ปราการกมานันท์ ที่ช่วยเหลือในการจัดทำเอกสาร

ขอขอบคุณบริษัทอินเตอร์เวท (ประเทศไทย) จำกัด ที่สนับสนุนเชื้อไวรัสและทุนการศึกษา

ขอขอบคุณคณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่สนับสนุนทุนการศึกษา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ญ
บทที่ 1	
บทนำ	
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
คำถามการวิจัย.....	3
วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	3
รูปแบบการวิจัย.....	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2	
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
แนวคิดและทฤษฎี.....	5
โรคหลอดลมอักเสบติดต่อ.....	5
วิธี Virus neutralization และวิธี enzyme-linked immunosorbent assay.....	10
วิธี VN.....	10
วิธี ELISA.....	12
บทที่ 3	
วิธีดำเนินการวิจัย	
การศึกษาระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรน 4/91 และสเตรนแมสซาชูเซตส์ ด้วยวิธี VN และระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อ ด้วยวิธี ELISA ในไก่ทดลอง.....	15
การศึกษาระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรน 4/91 และสเตรนแมสซาชูเซตส์ ด้วยวิธี VN และระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อ ด้วยวิธี ELISA ในไก่เนื้อจาก ฟาร์ม.....	15
การเก็บตัวอย่างเลือดและซีรัม.....	16

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

การเตรียมไวรัสสำหรับการตรวจแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อ ด้วยวิธี VN.....	16
การเตรียม pCEK.....	17
การตรวจระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อ ด้วยวิธี VN.....	18
การตรวจระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อ ด้วยวิธี ELISA.....	18
การวิเคราะห์และแปลผลข้อมูล.....	19
บทที่ 4	
ผลการทดลอง	
ไก่ทดลอง.....	20
ไก่เนื้อจากฟาร์ม.....	25
บทที่ 5	
อภิปรายผล สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	
อภิปรายผลการวิจัย.....	30
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	33
รายการอ้างอิง.....	34
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	42

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
ตารางที่ 1 ระดับแอนติบอดีต่อโรคหอดดลมอักเสบติดต่อสเตรนแมสซาชูเซตส์ และ 4/91 ในไก่ทดลอง ด้วยวิธี VN	21
ตารางที่ 2 ระดับแอนติบอดีต่อโรคหอดดลมอักเสบติดต่อ ในไก่ทดลอง ด้วยวิธี ELISA	23
ตารางที่ 3 ระดับแอนติบอดีต่อโรคหอดดลมอักเสบติดต่อสเตรนแมสซาชูเซตส์ และ 4/91 ในไก่เนื้อจากฟาร์ม ด้วยวิธี VN.....	25
ตารางที่ 4 ระดับแอนติบอดีต่อโรคหอดดลมอักเสบติดต่อ ในไก่เนื้อจากฟาร์ม ด้วยวิธี ELISA ...	28

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ	หน้า
แผนภูมิที่ 1 ปฏิกริยา virus neutralization test.....	12
แผนภูมิที่ 2 ปฏิกริยา indirect ELISA.....	13
รูปที่ 1 pCEK monolayer ปกติ.....	19
รูปที่ 2 pCEK เกิด CPE.....	19
รูปที่ 3 ระดับแอนติบอดีต่อโรคหอดลมอักเสบติดต่อสเตรนแมสซาชูเซตส์ และ 4/91 ในไก่ทดลอง ด้วยวิธี VN.....	22
รูปที่ 4 ระดับแอนติบอดีต่อโรคหอดลมอักเสบติดต่อ ในไก่ทดลอง ด้วยวิธี ELISA.....	24
รูปที่ 5 ระดับแอนติบอดีต่อโรคหอดลมอักเสบติดต่อสเตรนแมสซาชูเซตส์ ในไก่เนื้อจากฟาร์ม ด้วยวิธี VN.....	26
รูปที่ 6 ระดับแอนติบอดีต่อโรคหอดลมอักเสบติดต่อสเตรน 4/91 ในไก่เนื้อจากฟาร์ม ด้วยวิธี VN.....	27
รูปที่ 7 ระดับแอนติบอดีต่อโรคหอดลมอักเสบติดต่อ ในไก่เนื้อจากฟาร์ม ด้วยวิธี ELISA	29