

อภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าที่อายุ 1 วัน ลูกไก่ทดลองมีระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรนแมสซาชูเซตส์ ด้วยวิธี VN เท่ากับ 7.9 ± 1.1 เป็นแอนติบอดีที่ลูกไก่ได้รับจากแม่ไก่ ลดลงเหลือ 3.8 ± 2.1 , 0.4 ± 1.3 เมื่ออายุ 10 วัน และ 21 วัน ตามลำดับ ส่วนระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรน 4/91 ด้วยวิธี VN ที่อายุ 1 วัน เท่ากับ 5.2 ± 2.1 และตรวจไม่พบระดับแอนติบอดีที่อายุ 10 วัน เนื่องจากไก่พันธุ์-สายพันธุ์ไก่เนื้อได้รับวัคซีนหลอดลมอักเสบติดต่อเชื้อเป็นและเชื้อตายหลายครั้ง (ไม่ได้รับวัคซีนสเตรน 4/91) และแม่ไก่อาจได้รับเชื้อ IBV นอกจากการได้รับวัคซีน ซึ่งการได้รับเชื้อ IBV หลายครั้ง โดยเฉพาะต่างซีโรไทป์ จะกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีต่อเชื้อ IBV บางซีโรไทป์ที่ไก่ไม่เคยได้รับมาก่อน (Gelb and Killian, 1987 ; Karaca and Naqi, 1993 ; De Wit *et al.*, 1997) จึงตรวจพบแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรน 4/91 สำหรับระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อ ซึ่งตรวจด้วยวิธี ELISA ที่อายุ 1 วัน เท่ากับ 8004 ± 6356 และลดลงเหลือ 199 ± 307 เมื่ออายุ 10 วัน และตรวจไม่พบระดับแอนติบอดีที่อายุ 21 วัน

การตอบสนองต่อการได้รับวัคซีนในไก่ทดลอง พบว่าการให้วัคซีนหลอดลมอักเสบติดต่อเชื้อเป็นสเตรน H120 ที่อายุ 1 วัน และสเตรนแมสซาชูเซตส์ ที่อายุ 10 วัน โดยการหยอดตา (กลุ่มทดลองที่ 1) และการให้วัคซีนหลอดลมอักเสบติดต่อเชื้อเป็นสเตรนแมสซาชูเซตส์ ที่อายุ 10 วัน โดยการหยอดตา (กลุ่มทดลองที่ 2) สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อในไก่เนื้อที่มีแอนติบอดีที่ได้รับจากแม่ไก่ โดยระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อ ด้วยวิธี ELISA ในกลุ่มทดลองที่ 1 เพิ่มขึ้นจาก 0 ± 0 ที่อายุ 21 วัน เป็น 294 ± 353 , 365 ± 587 และ 857 ± 764 ที่อายุ 28 , 35 และ 42 วันตามลำดับ ในกลุ่มทดลองที่ 2 เพิ่มขึ้นจาก 0 ± 0 ที่อายุ 21 วัน เป็น 89 ± 154 , 199 ± 363 และ 783 ± 1820 ที่อายุ 28 , 35 และ 42 วันตามลำดับ และระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรนแมสซาชูเซตส์ ด้วยวิธี VN ในกลุ่มทดลองที่ 1 เพิ่มขึ้นจาก 0.4 ± 1.3 ที่อายุ 21 วัน เป็น 3.6 ± 2.5 , 5.0 ± 1.0 และ 5.8 ± 1.2 ที่อายุ 28 , 35 และ 42 วันตามลำดับ ในกลุ่มทดลองที่ 2 เพิ่มขึ้นจาก 0.4 ± 1.3 ที่อายุ 21 วัน เป็น 3.0 ± 2.1 , 3.3 ± 2.3 และ 4.1 ± 2.5 ที่อายุ 28 , 35 และ 42 วันตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของ Andrade และคณะ (1983) และ De Wit และ คณะ (1997) ที่รายงานว่า การให้วัคซีนหลอดลมอักเสบติดต่อ

เชื้อเป็นสเตรน H120 ที่อายุ 1 วัน โดยการหยอดตา และพ่นเป็นละออง ในไก่เนื้อที่มีแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรนแมสซาชูเซตส์ที่ได้รับจากแม่ไก่ สามารถกระตุ้นให้เกิดการสร้างแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรนแมสซาชูเซตส์ เมื่อไก่อายุ 28 วัน การที่ระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรนแมสซาชูเซตส์ ด้วยวิธี VN ในกลุ่มทดลองที่ 1 สูงกว่ากลุ่มทดลองที่ 2 ในไก่ทุกอายุ อธิบายได้ว่าการได้รับวัคซีนซีโรไทป์แมสซาชูเซตส์ 2 ครั้ง จะเกิดการตอบสนองทางด้านภูมิวิทยา (immunology) ที่เกิดขึ้นซ้ำเมื่อสัตว์ได้รับแอนติเจนที่เคยได้รับซ้ำอีก เม็ดเลือดขาวชนิด memory B-lymphocyte ซึ่งมีความจำทางภูมิวิทยาจะรับรู้แอนติเจนดังกล่าว ทำให้มีการตอบสนองทางภูมิวิทยาเพิ่มสูงขึ้นไปอีก (anamnestic response) (Winterfield *et al.*, 1976 ; Halvorson *et al.*, 1991) และที่อายุ 35 วันสามารถตรวจพบแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรน 4/91 ด้วยวิธี VN ในไก่กลุ่มทดลองที่ 1 คือ 0.4 ± 1.3 และสูงขึ้นเป็น 1.7 ± 2.2 ที่อายุ 42 วัน สอดคล้องกับรายงานของ Gelb และ Killian (1987) และ Karaca และ Naqi (1993) ที่รายงานว่าไก่ที่ได้รับ IBV ซีโรไทป์เดียวกันซ้ำ จะเกิด cross-reactions กับ IBV ซีโรไทป์อื่นในระดับต่ำ เนื่องจากเมื่อไก่ได้รับเชื้อ IBV ซีโรไทป์หนึ่ง ไก่จะสร้างแอนติบอดีต่อส่วนต่างๆของไวรัส ทั้งส่วนที่จำเพาะต่อซีโรไทป์และส่วนร่วมของไวรัส และเชื้อ IBV ซีโรไทป์แมสซาชูเซตส์ซึ่งใช้เป็นวัคซีน มีลำดับกรดอะมิโนใน S1 ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นการสร้าง neutralizing antibody คล้ายกันมาก (Cavanagh *et al.*, 1988) นอกจากนี้ยังพบว่าไม่สามารถวัดระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรน 4/91 ด้วยวิธี VN ในไก่กลุ่มทดลองที่ 2 ที่อายุ 35 วัน สอดคล้องกับรายงานของ Cook และคณะ (1999) ที่รายงานว่าไม่สามารถวัดระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อ สเตรน 4/91 ด้วยวิธี HI ที่อายุ 35 วัน ในไก่ที่ได้รับวัคซีนหลอดลมอักเสบติดต่อเชื้อเป็นสเตรน Ma 5 โดยวิธีการหยอดจมูกที่อายุ 1 วัน แต่ตรวจพบแอนติบอดีเมื่อไก่อายุ 42 วัน คือ 0.9 ± 1.9 เนื่องจากวิธี VN จะมีความจำเพาะสูงมาก ในไก่ที่ได้รับเชื้อ IBV เพียงครั้งเดียว (Marquardt *et al.*, 1981 ; Gelb and Killian, 1987 ; Karaca and Naqi, 1993) De Wit และคณะ (1997) รายงานว่าวิธี VN ต่อสเตรนแมสซาชูเซตส์ มีความจำเพาะ 100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อใช้ cut-off value ของระดับแอนติบอดีเท่ากับ 5 ในไก่ที่ได้รับเชื้อ IBV สเตรนแมสซาชูเซตส์ครั้งเดียว และความจำเพาะจะลดต่ำลงในไก่ที่เคยได้รับวัคซีน H120 ก่อนการได้รับเชื้อ IBV สเตรนอื่นๆ ตามมา กล่าวคือความจำเพาะของวิธี VN ต่อสเตรนแมสซาชูเซตส์ เมื่อใช้ cut-off value ของระดับแอนติบอดี 5 , 6 , 7 และ 8 จะมีค่าเป็น 17 , 38 , 60 และ 81 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การตอบสนองต่อการได้รับวัคซีนหลอดลมอักเสบติดต่อเชื้อเป็นในไก่เนื้อจากฟาร์ม พบว่าไก่เนื้อจากฟาร์มในจังหวัดอุบลราชธานี ฟาร์มที่ 1 และ 2 มีระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อด้วยวิธี VN และ ELISA ไกล่เคียงกับไก่กลุ่มทดลองที่ 2 ซึ่งให้วัคซีนซีโรไทป์

แมสซาชูเซตส์ 1 ครั้งเช่นเดียวกัน เนื่องจากวัคซีนหลอดลมอักเสบติดต่อกันที่ใช้ เป็นสเตรน H120 ซึ่งอยู่ในซีโรไทป์เดียวกับสเตรนแมสซาชูเซตส์ และมีความเกี่ยวข้องกันทางแอนติเจน (Darbyshire *et al.*,1979) สามารถกระตุ้นการสร้างแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อกันสเตรนแมสซาชูเซตส์ ในไก่เนื้อที่มีระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อกันที่ได้รับจากแม่ไก่ และสามารถวัดระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อกันสเตรนแมสซาชูเซตส์ ด้วยวิธี VN เมื่อไก่อายุ 28 วัน (Andrale *et al.*,1983 ; De Wit *et al.*,1997) และจากระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อกันสเตรน 4/91 ซึ่งตรวจด้วยวิธี VN เมื่อเปรียบเทียบกับไก่กลุ่มทดลองที่ 2 ซึ่งไม่เคยได้รับเชื้อ IBV สเตรน 4/91 แสดงว่าไก่ไม่เคยได้รับเชื้อ IBV สเตรน 4/91

ไก่เนื้อจากฟาร์มในจังหวัดชลบุรี มีระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อกันสเตรนแมสซาชูเซตส์ ด้วยวิธี VN และระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อกัน ด้วยวิธี ELISA สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับไก่กลุ่มทดลองที่ 2 ซึ่งให้วัคซีนหลอดลมอักเสบติดต่อกันสเตรนแมสซาชูเซตส์ 1 ครั้งเช่นเดียวกัน โดยเฉพาะเมื่ออายุ 42 วัน คือ 5.9 ± 0.7 และ 5644 ± 3467 ตามลำดับ และพบว่าระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อกันสเตรน 4/91 ด้วยวิธี VN เมื่ออายุ 42 วัน สูงกว่ากลุ่มทดลอง คือ 5.1 ± 0.9 อาจแสดงถึงการได้รับเชื้อ IBV นอกจากการได้รับวัคซีน แต่ไม่อาจสรุปว่าเป็นการติดเชื้อ IBV สเตรนใด เนื่องจาก cross-reactions ที่พบในไก่ที่ได้รับเชื้อ IBV หลายครั้ง โดยเฉพาะเมื่อมีการได้รับเชื้อมากกว่า 1 ซีโรไทป์ cross-reactions ที่เกิดจะมากกว่าการได้รับ IBV ซีโรไทป์เดียวกันซ้ำ (Gelb and Killian,1987 ; De Wit *et al.*,1997) เมื่อ cross-reactions อยู่ในระดับสูง โดยเฉพาะไก่อายุมากซึ่งเคยได้รับวัคซีนหลอดลมอักเสบติดต่อกันและอาจมีการติดเชื้อต่างซีโรไทป์ การแปลผลทางซีรัมวิทยาอาจเป็นไปได้ยาก (Gough *et al.*,1992 ; De Wit ,2000) และไม่อาจสรุปว่าเป็นการติดเชื้อ IBV สเตรน 4/91 เนื่องจากเมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Cook และคณะ (1999) ซึ่งรายงานว่ ไก่ที่ได้รับเชื้อ IBV สเตรน Ma 5 และ 4/91 พบว่ามีระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อกัน สเตรน 4/91 ด้วยวิธี HI สูงกว่าสเตรนแมสซาชูเซตส์ แต่จากการทดลองครั้งนี้ พบระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อกันสเตรนแมสซาชูเซตส์ ด้วยวิธี VN สูงกว่าสเตรน 4/91 ซึ่งวิธี HI สามารถใช้ในการแยกความแตกต่างของแอนติบอดีที่ถูกกระตุ้นโดยสเตรนของไวรัสต่างซีโรไทป์กัน แต่มีความจำเพาะต่ำกว่าวิธี VN (King and Hopkins, 1983 ; Gelb and Killian 1987 ; De Wit *et al.*,1997) และจากการศึกษาของ De Wit และคณะ (1997) ที่รายงานว่ วิธี VN มีความจำเพาะต่อซีโรไทป์ของไวรัสชนิดนี้ลดลงในไก่ที่เคยได้รับวัคซีน H120 จึงไม่สามารถสรุปว่ มีการติดเชื้อสเตรน 4/91 ในไก่เนื้อจากฟาร์มในจังหวัดชลบุรี

ไก่เนื้อจากฟาร์มในจังหวัดลพบุรี มีระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อกันสเตรนแมสซาชูเซตส์ ด้วยวิธี VN และระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อกัน ด้วยวิธี ELISA เมื่อ

อายุ 42 วัน คือ 6.3 ± 1.2 และ 11717 ± 4656 ตามลำดับ สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับไก่กลุ่มทดลองที่ 1 ซึ่งให้วัคซีนหลอดลมอักเสบติดต่อซีโรไทป์แมสซาชูเซตส์ 2 ครั้งเช่นเดียวกัน และพบว่าระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรน 4/91 ด้วยวิธี VN เมื่ออายุ 42 วัน คือ 5.6 ± 1.0 ซึ่งสูงกว่าไก่ทดลอง อาจแสดงถึงการได้รับเชื้อ IBV นอกจากการได้รับวัคซีน แต่ไม่อาจสรุปว่าเป็นการติดเชื้อ IBV สเตรนใด เช่นเดียวกับไก่เนื้อจากฟาร์มในจังหวัดชลบุรี

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สรุปได้ว่า การให้วัคซีนหลอดลมอักเสบติดต่อเชื้อเป็นซีโรไทป์แมสซาชูเซตส์ 2 ครั้ง สามารถกระตุ้นให้ไก่ที่มีแอนติบอดีที่ได้รับจากแม่ไก่ สร้างแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรนแมสซาชูเซตส์ได้ในระดับที่สูงกว่าการให้วัคซีนเพียงครั้งเดียว และสามารถตรวจพบแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรน 4/91 ด้วยวิธี VN ได้ในระดับต่ำ

ในไก่เนื้อจากฟาร์ม 2 แห่ง ตรวจพบแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรน 4/91 ด้วยวิธี VN สูงกว่าไก่ทดลอง ดังนั้นอาจมีการระบาดของเชื้อไวรัสสเตรน 4/91 ในประเทศไทยแต่ไม่สามารถสรุปได้จากการตรวจทางซีรัมวิทยา ต้องอาศัยการตรวจแยกเชื้อไวรัส และพิสูจน์ไวรัสที่แยกได้ วิธี VN มีประโยชน์ในการวัดระดับแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อสเตรนต่างๆ จากการให้วัคซีน โดยเฉพาะการให้วัคซีนซีโรไทป์เดียวเนื่องจากมีความจำเพาะสูง การแยกซีโรไทป์ของไวรัส ด้วยวิธี VN ควรใช้ไวรัสทุกซีโรไทป์ เพื่อลดความผิดพลาดจาก cross-reactions และจากเชื้อไวรัสสเตรนใหม่ที่ไม่เคยมีรายงานการระบาด