ประสิทธิภาพของวัคซีนป้องกันโรคเบอร์ซาอักเสบติดต่อชนิดแรงปานกลางพิเศษ 3 ชนิด ในไก่เนื้อ

จิโรจ ศศิปรียจันทร์ สุวรักษ์ วรรณรัตน์ และนิวัตร จันทร์ศิริพรชัย

ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

*รับผิดชอบบทความ โทรศัพท์ 0-2218-8412 E-mail address: jiroj.s@chula.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประสิทธิภาพของวัคซีนป้องกันโรคเบอร์ซาอักเสบติดต่อ (ไอบีดี) ชนิดแรงปานกลางพิเศษ 3 ชนิด ในไก่เนื้อที่เลี้ยงเพื่อการค้า ซึ่งมีแอนติบอดีที่ลูกไก่ได้รับถ่ายทอดมาจากแม่ไก่ (maternal derived antibodies, MDA) ในระดับสูง โดยการนำไก่เนื้อเพศเมียจำนวน 146 ตัว มาเลี้ยงตั้งแต่อายุ 1 วัน เมื่อไก่อายุ 16 วัน แบ่งไก่ออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 34 ตัว ไก่ที่เหลือ 10 ตัว เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจ MDA และผ่าซากเพื่อประเมินค่าอัตราส่วนน้ำหนักต่อมเบอร์ซาต่อน้ำหนักไก่ (bursa to body weight ratios; B/BW ratios) และคะแนนรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยา (histopathological lesion score; HLS) ให้วัคซีนป้องกันโรคไอบีดีชนิดแรงปานกลางพิเศษ (intermediate-plus) A, B และ C แก่ไก่กลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ ไก่กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มควบคุม ไม่ได้รับวัคซีนใด ๆ ให้เชื้อไวรัสไอบีดีเมื่อไก่อายุ 30 วัน ชั่งน้ำหนักไก่ และเจาะเลือดไก่เพื่อตรวจแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีดีเมื่อไก่อายุ 16, 30 และ 40 วัน ผ่าซากไก่เพื่อประเมินค่า B/BW ratios และ HLS เมื่อไก่อายุ 30 และ 40 วัน ผลการทดลองพบว่า ไก่ที่ได้รับวัคซีนทั้ง 3 กลุ่ม ไม่มีไก่ตาย ขณะที่ไก่กลุ่มควบคุมตาย 1 ตัว ผลด้านน้ำหนักตัวไก่ พบว่า เมื่อไก่อายุ 40 วัน ไก่กลุ่มที่ 1 ซึ่งได้รับวัคซีน A มีน้ำหนักมากกว่าไก่กลุ่มที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ 3 และ 4 ($p>0.05$) ขณะที่ไก่กลุ่มที่ 2, 3 และ 4 มีน้ำหนักตัวไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) ผลการตรวจ MDA ก่อนให้วัคซีนเมื่อไก่อายุ 16 วัน พบว่า ไก่มี MDA จำนวน 19 ตัวอย่าง จากที่ตรวจ 20 ตัวอย่าง และเมื่อไก่อายุ 30 วัน ก่อนการให้เชื้อไวรัส พบว่าไก่ทุกกลุ่มมีค่าแอนติบอดีเป็นลบ แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองเมื่อไก่อายุ 40 วัน ตรวจพบแอนติบอดีจากทุกตัวอย่างที่นำมาตรวจ ด้าน B/BW ratios และ HLS ของไก่แต่ละกลุ่มที่เปรียบเทียบกัน เมื่อไก่อายุ 30 และ 40 วัน ไม่พบความแตกต่างกัน ($p>0.05$) จากผลการทดลอง สรุปได้ว่า การให้วัคซีนทั้ง 3 ชนิด ในไก่เนื้ออายุ 16 วัน ขณะที่ไก่ยังมี MDA ระดับสูง วัคซีนไม่มีผลกระทบใดๆ ต่ออัตราการเจริญเติบโต B/BW ratios และ HLS และตรวจไม่พบแอนติบอดีต่อวัคซีนที่ไก่ได้รับ ดังนั้น เมื่อไก่ได้รับเชื้อไวรัสไก่กลุ่มที่ได้รับวัคซีน จึงยังมีค่า HLS ในระดับสูงเช่นเดียวกับไก่กลุ่มควบคุม ซึ่งหมายความว่า วัคซีนที่ไก่ได้รับ ไม่สามารถป้องกันผลของเชื้อไวรัสไอบีดีที่เกิดกับต่อมเบอร์ซาได้

ตัวสำคัญ: โรคเบอร์ซาอักเสบติดต่อ วัคซีน แอนติบอดีที่ลูกไก่ได้รับถ่ายทอดมาจากแม่ไก่ การป้องกันโรค ไก่เนื้อ

บทนำ

โรคเบอร์ซาอักเสบติดต่อ (infectious bursal disease) หรือโรคไอบีดี (IBD) เป็นโรคสำคัญในไก่ เกิดจากเชื้อไวรัสในสกุล *Avibirnavirus* วงศ์ *Birnaviridae* (Lukert and Saif, 2003) เป็นโรคติดเชื้อที่มีความรุนแรงและแพร่เชื้อได้อย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดความเสียหายอย่างมาก โดยเฉพาะในไก่อายุต่ำกว่า 6 สัปดาห์ ลักษณะเด่นของโรคคือ เชื้อไวรัสมีเป้าหมายในการทำลายลิมโฟไซต์ ที่ทำหน้าที่เกี่ยวกับการสร้างภูมิคุ้มกัน อวัยวะเป้าหมายที่สำคัญของเชื้อไวรัสคือ ต่อมเบอร์ซา (bursa of Fabricius) ซึ่งเป็นแหล่งสร้าง B lymphocytes ที่สำคัญในไก่ (van den Berg *et al.*, 2000) ความรุนแรงของโรคมีความสัมพันธ์กับจำนวนลิมโฟไซต์ที่อยู่ภายในต่อมเบอร์ซา ซึ่งพบว่า มีจำนวนมากที่สุดในช่วงอายุ 3 ถึง 6 สัปดาห์ เนื่องจากเป็นช่วงที่มีพัฒนาการของต่อมเบอร์ซาอย่างรวดเร็ว จึงเป็นสาเหตุให้ไก่ในช่วงอายุดังกล่าว มีความไวรับต่อการเกิดโรคแบบแสดงอาการ (van den Berg *et al.*, 1991) การติดเชื้อไวรัสในไก่ที่ช่วงอายุ 0-3 สัปดาห์ จะแสดงอาการแบบไม่รุนแรงหรือไม่แสดงอาการป่วย และพบว่ามีอัตราการตายต่ำ แต่ไก่ที่ได้รับเชื้อในช่วงอายุดังกล่าวจะเกิดภาวะกดการสร้างภูมิคุ้มกันต่อการติดเชื้อต่าง ๆ ภายหลังการหายจากโรคแบบแสดงอาการ หรือจากการได้รับเชื้อไวรัสในระยะแรก เป็นผลให้เกิดการฝ่อของเนื้อเยื่อน้ำเหลืองภายในต่อมเบอร์ซา ส่งผลให้เกิดความบกพร่องในการสร้างภูมิคุ้มกัน ไก่จึงมีโอกาสป่วยด้วยโรคต่างๆ ง่ายกว่าปกติ (Sharma *et al.*, 2000)

เนื่องจากคุณสมบัติของเชื้อไวรัสมีความคงทน และสามารถอยู่ในสิ่งแวดล้อมในฟาร์มได้ดี ทำให้ยากที่จะกำจัดเชื้อนี้ให้หมดไปจากฟาร์ม จึงยังคงพบการระบาดของโรคเกิดขึ้นเป็นครั้งคราวในประเทศต่างๆ รวมทั้งประเทศไทยด้วย สำหรับในประเทศไทย พบโรคทั้งในไก่เนื้อและไก่ไข่ โดยเฉพาะในช่วงฤดูร้อนต่อฤดูฝนของทุกปี ซึ่งแนวทางในการป้องกันโรค ประกอบด้วย ความเข้มงวดในการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรงเรือน มีระยะเวลาของการพักโรงเรือนที่นานพอ เข้มงวดกับระบบการป้องกันโรคของฟาร์มควบคู่กับการให้วัคซีนป้องกันโรค ซึ่งส่วนมากจะให้วัคซีนเชื้อเป็นในลูกไก่ โดยแบ่งตามคุณสมบัติความรุนแรงของเชื้อไวรัสเป็น 3 ระดับ คือ ระดับอ่อน (mild) ระดับปานกลาง (intermediate) และระดับแรงปานกลางพิเศษหรือระดับรุนแรง (intermediate-plus หรือ hot) ซึ่งเชื้อไวรัสของวัคซีนระดับอ่อนและแรงปานกลาง จะโดนหักล้าง (neutralized) โดยแอนติบอดีในลูกไก่ที่ได้รับถ่ายทอดมาจากแม่ไก่ (maternal derived antibodies, MDA) ดังนั้น วัคซีน 2 ชนิดแรกนี้จะกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ดีเฉพาะในลูกไก่ที่มี MDA ในระดับต่ำ (Tsukamoto *et al.*, 1995) ส่วนวัคซีนชนิดแรงปานกลางพิเศษ สามารถป้องกันเชื้อไวรัสชนิดรุนแรงได้ดี แต่การให้วัคซีนชนิดนี้แก่ลูกไก่ที่ไม่มี MDA หรือมี MDA ในระดับต่ำ ไวรัสของวัคซีนสามารถทำให้เกิดรอยโรคที่ต่อมเบอร์ซาได้ (Muller *et al.*, 1992)

สำหรับประเทศไทย ตั้งแต่มีการแพร่ระบาดของโรคไอบีดีชนิดรุนแรงในปี พ.ศ. 2533 (Sasipreeyajan, 1995) จนถึงปัจจุบัน ยังคงพบอุบัติการณ์ของโรคเป็นครั้งคราว แม้ไก่จะได้รับวัคซีนแล้วก็ตาม ซึ่งปัจจุบันวัคซีนป้องกันโรคไอบีดีในไก่เนื้อชนิดที่นิยมใช้กันมากที่สุดคือ ชนิดแรงปานกลางพิเศษ ประกอบกับมีการให้วัคซีนชนิดเชื้อตายในไก่พ่อ-แม่พันธุ์ ไก่พ่อ-แม่พันธุ์จึงมีแอนติบอดีต่อ

ไวรัสไอบีดีในระดับสูง ส่งผลให้ลูกไก่มี MDA ในระดับสูงเช่นเดียวกัน จึงน่าจะเป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับอุบัติการณ์ของโรคที่ยังคงเกิดขึ้น เนื่องจากการหักล้างกันของ MDA และไวรัสจากวัคซีน ส่งผลให้ไวรัสจากวัคซีนไม่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ ดังนั้น ในการทดลองครั้งนี้จึงได้นำวัคซีนชนิดแรงปานกลางพิเศษ 3 ชนิด ที่มีใช้กันทั่วไปในฟาร์มที่เลี้ยงไก่เพื่อการค้า มาทำการทดลองในไก่เนื้อที่เลี้ยงเพื่อการค้า ซึ่งมี MDA ในระดับสูง เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของวัคซีนในการป้องกันโรคไอบีดีชนิดรุนแรงที่ก่อโรคในประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

สัตว์ทดลอง

ไก่เนื้อพันธุ์ Arbor Acres เพศเมีย จำนวน 146 ตัว นำเข้ามาเลี้ยงตั้งแต่อายุ 1 วัน โดยเลี้ยงในกรงยกพื้น ภายในห้องทดลองที่อาคารสัตว์ทดลอง คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ไก่มีอาหารและน้ำกินตลอดเวลา

วัคซีนและวิธีให้

วัคซีนป้องกันโรคเบอร์ซาอักเสบติดต่อ (ไอบีดี) ชนิดแรงปานกลางพิเศษ (intermediate-plus) ที่มีใช้ในฟาร์มไก่เพื่อการค้าในประเทศไทย จำนวน 3 ชนิด ได้รับโดยตรงจากบริษัทผู้แทนจำหน่ายในประเทศไทย ประกอบด้วยวัคซีน A, B และ C ซึ่งวัคซีนทั้ง 3 ชนิดนี้ เป็นวัคซีนเชื้อเป็นผลิตจากไวรัสในกลุ่ม classical type 1 วัคซีนแต่ละชนิดมีไวรัสไม่น้อยกว่า $10^{0.5}$ $10^{2.0}$ และ $10^{2.0}$ 50% embryo infectious dose (EID_{50})/โดส ตามลำดับ วัคซีนอยู่ในรูป freeze-dried (lyophilized) ก่อนให้วัคซีนไก่เทน้ำยาละลาย (diluent) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร (มล.) ลงในวัคซีนสำหรับให้ไก่ 1,000 ตัว บริษัทผู้ผลิตแนะนำให้วัคซีนโดยการละลายน้ำให้ไก่กินเอง ดังนั้น เพื่อให้ไก่ทุกตัวได้รับวัคซีน 1 โดส เท่ากัน ในการทดลองจึงให้โดยการหยดใส่ปากไก่ทีละตัว ตัวละ 30 ไมโครลิตร

เชื้อไวรัส

เชื้อไวรัสไอบีดีชนิดรุนแรงที่ก่อโรคในประเทศไทย นำมาเพิ่มจำนวนในไก่ที่ปลอดแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีดี อายุ 5 สัปดาห์ ด้วยการให้เชื้อไวรัสทางปาก หลังจากนั้น 3 วัน ทำการเก็บต่อมเบอร์ซาและม้ามมาปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันใน phosphate buffer saline (PBS) อัตราส่วน น้ำหนักต่อมเบอร์ซาและม้าม 10 กรัมต่อ PBS 90 มล. นำส่วนใสของ suspension มาฉีดไข่ไก่ฟักเพื่อหาปริมาณเชื้อไวรัส (Elankumaran *et al.*, 2002; Rautenschlein *et al.*, 2003 และ Winterfield *et al.*, 1972) ไก่ทดลองได้รับเชื้อไวรัสทางปากตัวละ 100 ไมโครลิตร ซึ่งมีเชื้อไวรัสประมาณ 10^5 ELD_{50} เชื้อไวรัสจำนวนเท่ากันนี้ได้ทดสอบความรุนแรงในไก่ไข่ที่ปลอดแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีดี อายุ 4 สัปดาห์ จำนวน 20 ตัว ไก่ไข่เหล่านี้ได้รับเชื้อไวรัสพร้อมกับไก่ทดลอง

วิธีการ

เมื่อไก่อายุ 16 วัน แบ่งไก่ 146 ตัว ออกเป็น 4 กลุ่ม ๆ ละ 34 ตัว ไก่ที่เหลือ 10 ตัว เก็บตัวอย่างเลือดเพื่อตรวจ MDA และประเมินค่าอัตราส่วนน้ำหนักต่อมเบอร์ซาต่อน้ำหนักไก่ (bursa to body weight ratios; B/BW ratios) และคะแนนรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยา (histopathological lesion score; HLS) ให้วัคซีนป้องกันโรคไอบีดี A, B และ C แก่ไก่กลุ่มที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ ส่วนไก่กลุ่มที่ 4 เป็นกลุ่มควบคุมไม่ได้รับวัคซีนใดๆ ไก่ทั้งหมดได้รับเชื้อไวรัสเมื่อไก่อายุ 30 วัน เก็บไก่ไว้ดูอาการ 10 วัน ทำการผ่าซากไก่ที่ตายเพื่อตรวจดูรอยโรค ทำการชั่งน้ำหนักไก่เมื่อไก่อายุ 16, 30 และ 40 วัน

การเจาะเลือด

สุ่มเจาะเลือดไก่จากไก่ทั้งหมดก่อนการแบ่งกลุ่ม จำนวน 20 ตัว เมื่อไก่อายุ 16 วัน เจาะเลือดไก่กลุ่มละ 20 และ 10 ตัว เมื่อไก่อายุ 30 และ 40 วัน ตามลำดับ แยกซีรัมจากการเจาะเลือดแต่ละครั้งเก็บไว้ที่อุณหภูมิลบ 20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการตรวจแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีดีด้วยวิธีอีไลซา เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ด้วยชุดตรวจสำเร็จรูปของบริษัท Synbiotics ประเทศสหรัฐอเมริกา

การเก็บตัวอย่างต่อมเบอร์ซา

ไก่ 10 ตัวที่เหลือจากการแบ่งกลุ่ม เมื่อไก่อายุ 16 วัน สุ่มไก่กลุ่มละ 10 และ 20 ตัว เมื่อไก่อายุ 30 และ 40 วัน ตามลำดับ ชั่งน้ำหนักไก่แต่ละตัว ทำการผ่าซากและชั่งน้ำหนักต่อมเบอร์ซา เพื่อนำมาคำนวณค่า B/BW ratios ซึ่งคำนวณดังนี้

$$\text{B/BW ratios} = \frac{\text{น้ำหนักต่อมเบอร์ซา (กรัม)}}{\text{น้ำหนักไก่ (กรัม)}} 1{,}000 \quad \text{(Kim } et\ al.\text{, 1999)}$$

นำต่อมเบอร์ซาจากการผ่าซากไก่แต่ละครั้งใส่ใน 10% neutral buffered formalin เพื่อตัด section และย้อมด้วยสี H&E เพื่อประเมิน HLS ตามวิธีของ Muskett *et al.* (1979) โดยมีเกณฑ์การให้คะแนนดังนี้: 0 = ไม่มีรอยโรค; 1 = พบลิมโฟไซต์ตายเพียงเล็กน้อยในบาง follicles; 2 = พบลิมโฟไซต์ถูกทำลายระดับปานกลาง โดยมีรอยโรคกระจายทั่วไปหรือบาง follicles ถูกทำลายอย่างรุนแรง; 3 = follicles มากกว่าร้อยละ 50 ถูกทำลายอย่างรุนแรง; 4 = พบลิมโฟไซต์หลงเหลืออยู่เพียงเล็กน้อย ภายใน follicles มีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและถุงน้ำเพิ่มขึ้น เนื้อเยื่อบุผิวหนาและย่น; 5 = รูปร่างของ follicles เสียไป พร้อมกับมีการเพิ่มของเส้นใย

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

เปรียบเทียบผลการทดลอง โดยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของแต่ละกลุ่ม โดยใช้ Duncan's multiple range test เปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราการตายโดยใช้ Chi-square ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการทดลอง

เมื่อไก่อายุ 16 วัน ผลการตรวจ MDA ก่อนไก่ได้รับวัคซีน พบว่า ไก่ที่มีค่าแอนติบอดีเป็นบวก จำนวน 19 ตัว จากที่ตรวจ 20 ตัว (ชุดตรวจสำเร็จรูป ตั้งเกณฑ์แอนติบอดี > 555 เท่ากับค่าแอนติบอดีที่เป็นบวก) โดยมีค่าเฉลี่ยของแอนติบอดี เท่ากับ 1,200±717 ค่า B/BW ratios เท่ากับ 2.09±0.63 ค่า HLS เท่ากับ 0.90±0.32 และน้ำหนักของไก่กลุ่มที่ 1-4 เท่ากับ 298.24±31.76; 297.94±36.08; 298.24±31.76 และ 297.94±37.24 ตามลำดับ ซึ่งน้ำหนักไก่ไม่มีความแตกต่างกัน (p>0.05) เมื่อไก่อายุ 30 วัน (14 วันภายหลังได้รับวัคซีน) ตรวจพบค่าแอนติบอดีเป็น 0 ในไก่ทุกกลุ่ม (ชุดตรวจสำเร็จรูป ตั้งเกณฑ์แอนติบอดี < 555 เป็น 0 ซึ่งหมายถึงค่าแอนติบอดีที่เป็นลบ) ค่า B/BW ratios ค่า HLS และค่าเฉลี่ยน้ำหนักไก่ของไก่แต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน (p>0.05) (ตารางที่ 1)

ภายหลังการให้เชื้อไวรัส พบไก่กลุ่มควบคุมตาย 1 ตัว ก่อนตายไก่แสดงอาการหงอยและซึม ไม่กินอาหาร สิ่งขับถ่ายเป็นน้ำและมีสารยูเรตสีขาว ไก่มีสภาพร่างกายขาดน้ำ จากการผ่าซาก พบสภาพเลือดออกที่กล้ามเนื้ออกและโคนขา ไตบวมและมีสารยูเรตใน ureter ต่อมเบอร์ซามีลักษณะบวมน้ำและรอบๆ ต่อมเบอร์ซามีลักษณะวุ้นใสหุ้ม ขณะที่ไก่ไข่ซึ่งได้รับเชื้อไวรัสพร้อมกัน มีอัตราการตายร้อยละ 60 (ตาย 12 ตัว จากไก่ไข่ ทั้งหมด 20 ตัว) โดยเริ่มพบไก่ตายในวันที่ 3 ถึงวันที่ 8 ภายหลังไก่ได้รับเชื้อไวรัส ไก่ไข่แสดงอาการป่วย และตรวจพบรอยโรคเช่นเดียวกับไก่เนื้อ แต่พบความเด่นชัดของรอยโรคใน ไก่ไข่มากกว่าในไก่เนื้อ และพบสภาพเลือดออกตรงรอยต่อของกระเพาะแท้และ กระเพาะบดและที่ต่อมเบอร์ซา

เมื่อไก่อายุ 40 วัน ตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีดีทุกตัวอย่าง ระดับแอนติบอดี ค่า B/BW ratios และ ค่า HLS ของไก่แต่ละกลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกัน (p>0.05) สำหรับผลของน้ำหนักไก่ พบว่า ไก่กลุ่มที่ 1 ซึ่งได้รับวัคซีน A มีน้ำหนักเฉลี่ยมากที่สุด และมากกว่ากลุ่มที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ 3 และ 4 (p>0.05) ขณะที่น้ำหนักเฉลี่ยของไก่กลุ่มที่ 2, 3 และ 4 มีน้ำหนักไม่แตกต่างกัน (p>0.05) (ตารางที่ 2)

วิจารณ์

MDA มีบทบาทสำคัญในการป้องกันโรคในลูกไก่ แต่ขณะเดียวกันก็มีผลเสีย เนื่องจากมีผลให้การให้วัคซีนในไก่อายุน้อยไม่ได้ผล เนื่องจากการหักล้างกันระหว่าง MDA และเชื้อไวรัสจากวัคซีน (van den Berg *et al.*, 2000) ซึ่ง Kouwenhoven and van den Bos (1995) ได้รายงานว่าระดับ MDA ต่อไวรัสไอบีดีจากการตรวจด้วยวิธีอีไลซา ระดับที่วัคซีนชนิดแรงสามารถผ่านได้ประมาณ 1:500 ซึ่งระดับ MDA ของการทดลองครั้งนี้ เมื่อไก่อายุ 16 วัน เท่ากับ 1,200±717 เป็นระดับที่สูงเกินกว่าที่วัคซีนที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้จะผ่านได้ ดังนั้น ไก่ที่ได้รับวัคซีนทุกกลุ่ม จึงไม่มีการตอบสนองต่อวัคซีน ที่ได้รับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Winterfield *et al.* (1972) และ Solano *et al.* (1986) ขณะที่ไก่กลุ่มที่ 4 ซึ่งไม่ได้รับวัคซีน ก็ตรวจไม่พบแอนติบอดีเช่นเดียวกัน เนื่องจาก MDA จะลดลงจนหมดไปภายใน 3-5 สัปดาห์ โดยขึ้นกับ MDA ที่ลูกไก่ได้รับมา (Tsukamoto *et al.*, 1995)

จากการทดลองของ Rautenschlein *et al.* (2003) ให้วัคซีนชนิดแรงปานกลาง (intermediate) ในไก่ปลอดเชื้อ (specific-pathogen-free; SPF) อายุ 3 สัปดาห์ พบว่า เชื้อไวรัสของวัคซีนก่อให้เกิด HLS ของต่อมเบอร์ซาได้สูงสุดถึง 4 ซึ่งเป็นการให้คะแนนตามวิธีของ Sharma *et al.* (1989) ซึ่งคะแนน 4 หมายถึง เซลล์ในฟอลลิเคิลของต่อมเบอร์ซา โดนทำลายร้อยละ 76-100 ซึ่งเป็นผลการทดลองที่แตกต่างจากการทดลองนี้ เนื่องจากการทดลองนี้ใช้ลูกไก่ที่ผลิตเพื่อการค้า และมี MDA ระดับสูง ซึ่งขัดขวางเชื้อไวรัสของวัคซีน ไวรัสของวัคซีนจึงไม่ก่อผลเสียใดๆ ต่อต่อมเบอร์ซา ดังนั้น ค่า B/BW ratios และ HLS ของไก่ที่ได้รับวัคซีนจึงไม่แตกต่างจากไก่กลุ่มควบคุม ดังนั้น เมื่อไก่ได้รับเชื้อไวรัส เชื้อไวรัสจึงก่อผลเสียและพบรอยโรคที่ต่อมเบอร์ซาของไก่ที่ได้รับวัคซีนเช่นเดียวกับไก่กลุ่มควบคุม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวัคซีนที่ไก่ได้รับ แม้จะเป็นชนิดแรงปานกลางพิเศษ ไก่ได้รับวัคซีนในขณะที่ไก่ยังมี MDA ระดับสูง ซึ่งมีผลในการขัดขวางการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของวัคซีน วัคซีนจึงไม่สามารถป้องกันต่อมเบอร์ซาจากผลของเชื้อไวรัสไอบีดีได้ แต่ถึงแม้ว่าไก่ทั้ง 3 กลุ่ม ที่ได้รับวัคซีน มีรอยโรคที่เป็นผลจากเชื้อไวรัส แต่ไม่ก่อให้เกิดอัตราการตายในไก่ทั้ง 3 กลุ่มนี้ ขณะที่ไก่กลุ่มควบคุม มีอัตราการตาย 1 ใน 24 ตัว หรือร้อยละ 4.17 ซึ่งเป็นอัตราการตายที่พบได้ทั่วไปในการเกิดโรคในไก่เนื้อ (Sasipreeyajan, 1995) ทั้งนี้เนื่องจาก ไก่เนื้อมีความไวรับต่อไวรัสไอบีดีต่ำกว่าไก่ไข่ (ธวัช และจิโรจ, 2546; Bumstead *et al.*, 1993) โดยมีข้อมูลสนับสนุนจากการทดลองครั้งนี้ที่ได้ให้เชื้อไวรัสจำนวนเท่ากันแก่ไก่ไข่อายุ 4 สัปดาห์ พบว่า มีอัตราการตายร้อยละ 60 ดังนั้น อัตราการตายอาจไม่ใช่ข้อบ่งชี้ที่ดีในการนำมาประเมินผล การป้องกันโรคของวัคซีนป้องกันโรคไอบีดีในไก่เนื้อ

วัคซีนป้องกันโรคไอบีดีชนิดแรง หรือชนิดแรงปานกลางพิเศษ มีโอกาสก่อผลเสียต่ออัตราการเจริญเติบโต ในกรณีที่ไก่ไม่มี MDA หรือมี MDA ระดับต่ำ โดยที่ลูกไก่ไข่มีโอกาสได้รับผลกระทบนี้มากกว่าลูกไก่เนื้อ (จิโรจ, 2547) ซึ่งการทดลองครั้งนี้ พบว่า เมื่อไก่อายุ 30 วัน (14 วันภายหลังได้รับวัคซีน) น้ำหนักของไก่แต่ละกลุ่มที่ได้รับวัคซีนไม่มีความแตกต่างจากไก่กลุ่มควบคุม ($p>0.05$) แสดงว่าวัคซีนแต่ละชนิดไม่ได้ก่อผลเสียต่อน้ำหนักตัวไก่ ซึ่งมีเหตุผลสองประการ กล่าวคือ ประการแรก ขณะที่ไก่ได้รับวัคซีน ไก่มี MDA ค่อนข้างสูง จึงสามารถหักล้างเชื้อไวรัสของวัคซีนและสามารถป้องกันผลกระทบของเชื้อไวรัสของวัคซีนต่อตัวไก่ ซึ่งสอดคล้องกับผลของแอนติบอดี B/BW ratios และ HLS และประการที่สอง ไก่เนื้อมีความไวรับต่อไวรัสไอบีดีต่ำกว่าไก่ไข่ (ธวัช และจิโรจ, 2546; Bumstead *et al.*, 1993) และเมื่อไก่อายุ 40 วัน ผลการเปรียบเทียบน้ำหนักไก่ พบว่าวัคซีนแต่ละชนิด ไม่สามารถป้องกันผลของโรคที่มีต่อน้ำหนักไก่ เนื่องจากไก่แต่ละกลุ่มที่ได้รับวัคซีน (ไก่กลุ่มที่ 1-3) มีน้ำหนักตัวไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p>0.05$) สอดคล้องกับแอนติบอดีของไก่ขณะที่ได้รับเชื้อ (ไก่อายุ 30 วัน) และค่า HLS เมื่อไก่อายุ 40 วัน ขณะเดียวกันตรวจพบแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีดีในไก่ทุกกลุ่ม ซึ่งเป็นผลจากการกระตุ้นให้เกิดแอนติบอดีจากการได้รับเชื้อไวรัส สอดคล้องกับรายงานของ Rautenschlein *et al.* (2003) ที่ให้ไวรัสชนิดรุนแรงในไก่ SPF อายุ 3 สัปดาห์ และตรวจพบแอนติบอดีโดยวิธีอีไลซาได้หลังไก่รับเชื้อ 8-29 วัน

จากผลการทดลอง พบว่า MDA มีผลกระทบต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของวัคซีนป้องกันโรคไอบีดี ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Kouwenhoven and van den Bos (1995) และ van den Berg *et al.* (2000) ดังนั้น ผู้ที่มีหน้าที่รับผิดชอบ หรือผู้ที่เกี่ยวข้อง ควรจะได้มีการติดตามและควบคุมระดับ ของ MDA ในไก่พ่อ-แม่พันธุ์ เพื่อให้ลูกไก่ได้รับ MDA ในระดับที่เหมาะสมและสามารถตอบสนองต่อวัคซีนที่ได้รับ ขณะเดียวกัน อาจต้องพิจารณากำหนดวันที่เหมาะสมในการให้วัคซีนให้สอดคล้องกับระดับของ MDA ในลูกไก่ โดยอาจพิจารณาตามวิธีการคำนวณของ Kouwenhoven and van den Bos (1995) เพื่อให้วัคซีนที่ไก่ได้รับเกิดประสิทธิผลในการป้องกันโรคได้จริง

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบน้ำหนักไก่, B/BW ratios, HLS และแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีดี เมื่อไก่อายุ 30 วัน

กลุ่ม	น้ำหนักไก่ (กรัม/ตัว)	B/BW ratios	HLS	แอนติบอดีต่อไวรัสไอบีดี
1	1,073.82±109.32[A,a]	2.13±0.61[a]	0.30±0.48[a]	0[B] (20)[C]
2	1,100.00±93.38[a]	1.86±0.42[a]	0.40±0.52[a]	0 (20)
3	1,071.47±115.94[a]	2.22±0.58[a]	0.50±0.53[a]	0 (20)
4	1,034.41±106.56[a]	2.16±0.56[a]	0.50±0.53[a]	0 (20)

[A] ค่าเฉลี่ย (mean) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

[a] ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

[B] ชุดตรวจสำเร็จรูป ตั้งเกณฑ์แอนติบอดี < 555 เป็น 0 ซึ่งหมายถึงค่าแอนติบอดีที่เป็นลบ

[C] จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบน้ำหนักไก่, B/BW ratios, HLS และแอนติบอดีต่อไวรัสไอบีดี เมื่อไก่อายุ 40 วัน

กลุ่ม	น้ำหนักไก่ (กรัม/ตัว)	B/BW ratios	HLS	แอนติบอดีต่อไวรัสไอบีดี
1	1,445.22±108.20[A,a]	0.82±0.21[a]	4.25±0.85[a]	2,576±711[a] (10/10)[B]
2	1,274.17±143.37[b]	0.82±0.14[a]	4.35±0.75[a]	3,307±721[a] (10/10)
3	1,290.02±245.11[a,b]	0.74±0.16[a]	4.47±0.70[a]	3,620±708[a] (10/10)
4	1,276.96±102.92[a,b]	0.78±0.16[a]	4.35±0.75[a]	3,289±770[a] (10/10)

[A] ค่าเฉลี่ย (mean) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

[a,b] ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกัน ที่ตามด้วยอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

[B] จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวก/จำนวนตัวอย่างที่ตรวจทั้งหมด

เอกสารอ้างอิง

จิโรจ ศศิปรียจันทร์. 2547. โรคกัมโบโร (Gumboro Disease). ใน: การจัดการและโรคสำคัญในไก่เนื้อ. ธนาเพรส แอนด์ กราฟฟิค, กรุงเทพฯ. หน้า 61-72.

ธวัช เล็กดำรงศักดิ์ และ จิโรจ ศศิปรียจันทร์. 2546. เปรียบเทียบความไวของไก่พื้นเมือง ไก่พื้นเมืองลูกผสม ไก่ไข่ และไก่เนื้อ ต่อไวรัสเบอร์ซาอักเสบติดต่อ. *เวชชสารสัตวแพทย์.* 33(2): 63-68.

Bumstead, N., Reece, R.L. and Cook, J.K.A. 1993. Genetic differences in susceptibility of chicken lines to infection with infectious bursal disease virus. Poult. Sci. 72: 403-410.

Elankumaran, S., Heckert, R.A. and Moura, L. 2002. Pathogenesis and tissue distribution of a variant strain of infectious bursal disease virus in commercial broiler chickens. Avian Dis. 46: 169-176.

Kim, I.J., Gagic, M. and Sharma, J.M. 1999. Recovery of antibody-producing ability and lymphocyte repopulation of bursal follicles in chickens exposed to infectious bursal disease virus. Avian Dis. 43: 401-413.

Kouwenhoven, B. and van den Bos, J. 1995. Control of very virulent infectious bursal disease (Gumboro Disease) in the Netherlands with more virulent vaccines. Proc. International Poultry Symposium "Summit on Infectious Bursal Disease" April 3-4, 1995. University of Georgia, U.S.A. p. 29-32.

Lukert, P.D. and Saif, Y.M. 2003. Infectious bursal disease. In: Diseases of Poultry. 11th ed., edited by Y.M. Saif, H.J. Barnes, A.M. Fadly, J.R. Glisson, L.R. McDougald and D.E. Swayne. Iowa State Press, Iowa. p. 161-179.

Muller, H., Schnitzler, D., Bernstein, F., Becht, H., Connelissen, D. and Lutticken, D.H. 1992. Infectious bursal disease of poultry: Antigenic structure of the virus and control. Vet. Microbiol. 33(1-4): 175-183.

Muskett, J.C., Hopkins, I.G., Edwards, K.R. and Thornton, D.H. 1979. Comparison of two infectious bursal disease vaccine strains: Efficacy and potential hazards in susceptible and maternally immune birds. Vet. Rec. 104: 332-334.

Rautenschlein, S., Yeh, H.Y. and Sharma, J.M. 2003. Comparative immunopathogenesis of mild, intermediate and virulent strain of classic infectious bursal disease virus. Avian Dis. 47: 66-78.

Sasipreeyajan, J. 1995. Current situation of IBD in Thailand and the role of hot vaccines in control. Proc. International Poultry Symposium "Summit on Infectious Bursal Disease" April 3-4, 1995. University of Georgia, U.S.A. p. 56-59.

Sharma, J.M., Dohms, J.E. and Metz, A.L. 1989. Comparative pathogenesis of serotype 1 and variant serotype 1 isolates of infectious bursal disease virus and their effect on humoral and cellular immune competence of specific-pathogen-free chickens. Avian Dis. 33: 112-124.

Sharma, J.M., Kim, I.J., Rautenschlein, S. and Yeh, H.Y. 2000. Infectious bursal disease virus of chicken: Pathogenesis and immunosuppression. Dev. Comp. Immunol. 24: 223-235.

Solano, W., Giambrone, J.J., Williams, J.C., Lauerman, L.H., Panangala, V.S. and Garces, C. 1986. Effect of maternal antibody on timing of initial vaccination of young white leghorn chickens against infectious bursal disease virus. Avian Dis. 30(4): 648-652.

Tsukamoto, K., Tanimura, N., Kakita, S., Ota, K., Mase, M., Imai, K. and Hihara, H. 1995. Efficacy of three live vaccines against highly virulent infectious bursal disease virus in chickens with or without maternal antibodies. Avian Dis. 39: 218-229.

van den Berg, T.P., 2000. Acute infectious bursal disease in poultry: A review. Avian Path. 29: 175-194.

van den Berg, T.P., Gonze, M. and Meulemans, G. 1991. Acute infectious bursal disease in poultry: isolation and characterization of highly virulent strain. Avian Path. 20: 133-143.

Winterfield, R.W., Fadly, A.M. and Bickford, A. 1972. Infectivity and distribution of infectious bursal disease virus in the chicken. Persistence of the virus and lesions. Avian Dis. 16: 622-632.

Efficacy of three intermediate-plus infectious bursal disease vaccines in broiler chickens.

Jiroj Sasipreeyajan*, Suwarak Wannaratana and Niwat Chansiripornchai

Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok.

*Corresponding author Tel.: 0-2218-9412; E-mail address: jiroj.s@chula.ac.th

Abstract

The objective of this study was to evaluate the efficacy of 3 intermediate-plus infectious bursal disease (IBD) vaccines in commercial broilers which had high level of maternal derived antibodies (MDA). One hundred forty six female broiler chickens were raised from day-old to 16-day-old and then divided into 4 groups of 34 chickens. The 10 remaining chickens were bled for determination of IBD virus (IBDV) MDA and necropsied for evaluation of bursa to body weight ratios (B/BW ratios) and histopathological lesion score (HLS). Intermediate-plus IBD vaccines A, B and C were given to chickens of group 1, 2 and 3, respectively. Group 4 did not receive any vaccine and served as control. All chickens were challenged with IBDV at 30-day-old. Body weight and blood collection for evaluation of IBDV antibodies were performed at 16, 30 and 40-day-old. B/BW ratios and HLS were also evaluated at 30 and 40-day-old. The results revealed that there was no mortality in the vaccinated groups. There was one chicken died in the control group. Body weight of each group at 16 and 30-day-old was not significantly different ($p>0.05$). At 40-day-old, body weight of group 1 was significantly higher than that of group 2 ($p<0.05$). It was higher than those of group 3 and 4 but there were not significantly different ($p>0.05$). Body weight of group 2, 3 and 4 were not significantly different ($p>0.05$). The result of MDA evaluation at 16-day-old, 19 of 20 chickens had positive titers. There was no serologic conversion at 30-day-old but all tested chickens at 40-day-old had serologic conversion. B/BW ratios and HLS of each group were not different ($p>0.05$) at 30 at 40-day-old. It is concluded that vaccines A, B and C, which were given to 16-day-old broiler chickens while MDA was still remaining at high level, did not cause any adverse effects to growth rate, B/BW ratios and HLS. Antibodies against IBD vaccine were not detected 14 days after vaccination. Therefore, after chickens received the challenged virus, HLS of the vaccinated chickens were as high as those of the controls. The results indicated that each vaccine did not protect the bursa against the challenged virus.

Keywords: Infectious bursal disease, vaccine, maternal derived antibodies, protection, broiler chicken