Comparative study between using tilmicosin with amoxicillin and feed supplement on broiler performance

Sasi Jaroenpoj[1] Somsak Pakpinyo[2]

Abstract

The study was aimed to compare the production performance of broilers by % live birds, average weight, FCR and % CRD. This study was conducted to compare group receiving tilmicosin during 1 – 3 days old followed by amoxicillin during 24 – 26 days old, group receiving the fermented potato protein during 1 – 14 days old and group receiving the garlic extract and essential oil during the broiler raising. All houses were located in the same farm, evaporative cooling system and had same standard management. All birds were vaccinated with Infectious Bronchitis, Newcastle and Infectious Bursal disease at the hatchery and farm. The results showed that 1 day old broilers had DNA of MG without any remarkable lesion. At 28 and 37 days old, the antibody responses against all vaccines were detected; the mean lesion scores of thoracic airsac were not significant difference; the mean lesion scores of trachea of both 28 and 37 days old were significant difference ($p < 0.05$) as follow. At 28 days old, group receiving tilmicosin and amoxicillin had the highest lesion score and significant difference with groups receiving protein supplement and group receiving the garlic extract with essential oil; at 37 days old group receiving protein supplement and group receiving tilmicosin with amoxicillin had the higher lesion score and significant difference with group receiving the garlic extract with essential oil. At 40 – 42 days old, group receiving tilmicosin with amoxicillin showed the best broiler performance and followed by groups receiving the garlic supplement with essential oil and group receiving protein supplement, respectively ($P > 0.05$).

Keywords: broilers, performance, essential oil, tilmicosin, amoxicillin, garlic extract, feed supplement

[1] Division of Animal Feed and Veterinary Products Control, Department of Livestock Development, Tiwanon Road, Bangkradee, Muang, Prathumthanee, 12000

[2] Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok, 10330

บทนำ

จากปัญหาเชื้อดื้อยาที่มีความสำคัญมากขึ้นทั้งในคนและสัตว์ และนโยบายภาครัฐต้องการให้มีการใช้ยาอย่างสมเหตุผล คือใช้ยาโดยมีข้อบ่งชี้ มีประสิทธิผลจริง สนับสนุนประโยชน์ทางคลินิกเหนือกว่าความเสี่ยงจากการใช้ยาอย่างชัดเจน โดยคำนึงถึงปัญหาเชื้อดื้อยา เพื่อลดการใช้ยาเกินความจำเป็น การเลี้ยงสัตว์ในบางกรณียังมีการใช้ยาเพื่อควบคุมป้องกันโรค ถูกตั้งคำถามถึงความเหมาะสม และความจำเป็นของการให้ยาในลักษณะดังกล่าว สำหรับการเลี้ยงไก่เนื้อจะมีการให้วัคซีนเป็นโปรแกรมตั้งแต่ลูกไก่อยู่ที่โรงฟักด้วยการพ่นวัคซีนเพื่อป้องกันโรคนิวคาสเซิล (Newcastle disease) และโรคหลอดลมอักเสบติดต่อ (infectious bronchitis) แต่หากลูกไก่แรกฟักออกมานั้นไม่แข็งแรงหรือได้รับเชื้อ *Mycoplasma gallisepticum* หรือ *Mycoplasma synoviae* ทำให้ลูกไก่มีโอกาสแพ้วัคซีนง่ายและรุนแรงขึ้น ปัญหาสุขภาพดังกล่าวอาจส่งผลต่อคุณลักษณะของไก่เนื้อได้

โรคติดเชื้อมัยโคพลาสมา กัลลิเซพติกุม หรือ เอ็มจี (*Mycoplasma gallisepticum* หรือ MG) เป็นโรคติดเชื้อของระบบทางเดินหายใจของสัตว์ปีกซึ่งมักพบแบบเรื้อรัง รอยโรคที่พบได้บ่อย คือ ถุงลมอักเสบเรียกว่า chronic respiratory disease (CRD) (Raviv and Ley, 2014) การติดต่อของโรคเกิดได้ 2 ทาง คือ แพร่เชื้อจากไก่ป่วยไปยังไก่ตัวอื่น (horizontal transmission) และแพร่เชื้อผ่านไข่ (vertical transmission) (Glisson and Kleven, 1984) ทำให้ลูกไก่แรกเกิดได้รับเชื้อเอ็มจี ไม่แข็งแรง และมีอัตราตายสูง อาการป่วยที่พบคือ จาม ไอ ตาแฉะ เยื่อตาขาวอักเสบ น้ำมูก (Raviv and Ley, 2014) หากพบว่าแม่ไก่ที่ติดเชื้อแล้วแพร่ผ่านไข่มาสู่ลูกไก่ ลูกไก่ที่ติดเชื้อมัยโคพลาสมามามีโอกาสง่ายในการแพ้วัคซีน (Smits et al., 1976) รุนแรง ยาวนานกว่าปกติ ไก่โตช้า ป่วยและอาจตายได้และเป็นปัญหาเรื้อรังของไก่ฝูงนี้ตลอดการเลี้ยง การให้วัคซีนป้องกันโรคอื่นๆ ก็ไม่ได้ผลเท่าที่ควร ค่าอัตราการแลกเนื้อ (feed conversion rate: FCR) สูงขึ้น อัตราการคัดทิ้งที่โรงเชือด (condemnation) สูงขึ้น (Vardaman et al., 1973) เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจตามมา (Raviv and Ley, 2014) การเลี้ยงอาจมีการให้ยาต้านมัยโคพลาสมาในช่วงอายุ 3 – 5 วันแรกเพื่อเป็นการป้องกันหรือลดหรือทำลายเชื้อมัยโคพลาสมาที่ลูกไก่อาจติดมาจากแม่ กลุ่มยาที่ใช้สำหรับต้านมัยโคพลาสมาในไก่ ได้แก่

กลุ่ม tetracyclines เช่น doxycycline เป็นต้น

กลุ่ม macrolides เช่น tilmicosin เป็นต้น

กลุ่ม fluoroquinolones เช่น enrofloxacin เป็นต้น

กลุ่ม lincosamides เช่น lincomycin เป็นต้น

กลุ่ม pleuromutilins เช่น tiamulin เป็นต้น

กลุ่มยาดังกล่าวอนุญาตให้ใช้ได้ยกเว้นยา enrofloxacin ซึ่งประเทศสหรัฐอเมริกาได้ยกเลิกทะเบียนการใช้ในรูปแบบละลายน้ำในสัตว์ปีก และห้ามใช้นอกเหนือจากข้อบ่งใช้ในฉลาก (extra labeled use) เนื่องจากผลการวิเคราะห์ความเสี่ยงพบว่าการใช้ยาดังกล่าวทำให้เกิดการคัดเลือกเชื้อดื้อยา fluoroquinolone-resistant Campylobacter species ในสัตว์ปีกและพบความเสี่ยงในผู้ป่วยจากการติดเชื้อดื้อยาดังกล่าวเพิ่มมากขึ้นหลังการอนุมัติให้ใช้ยานี้ในสัตว์ปีกในสหรัฐอเมริกา (Final decision of the

commissioner. 2005) สำหรับยาในกลุ่มอื่นอยู่ในกลุ่มที่มีการนำมาใช้ในมนุษย์ด้วย ยกเว้น tilmicosin เป็นยาซึ่งมีทะเบียนเฉพาะในสัตว์ ยังไม่มีการนำมาใช้ในมนุษย์ (WHO Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR), 2013) จึงนำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ สำหรับ tiamulin แม้จะยังไม่มีการนำมาใช้ในมนุษย์ แต่หากให้ยาในขนาดตั้งแต่ 50 ppm ขึ้นไปร่วมกับยาควบคุมบิดในกลุ่ม ionophore เช่น salinomycin พบความเป็นพิษต่อตัวสัตว์ปีก (Stipkovits et al., 1992)

ทั้งนี้ยาทุกชนิดที่จะนำมาใช้สำหรับสัตว์เพื่อการบริโภคได้ต้องมีการกำหนดระยะหยุดยาเพื่อป้องกันการตกค้างของยาในผลิตภัณฑ์ที่จะนำมาบริโภคซึ่งอาจมีผลเหนี่ยวนำให้เชื้อจุลชีพในลำไส้คนปกติดื้อยาได้

สำหรับ amoxicillin เป็นยาปฏิชีวนะออกฤทธิ์กว้างที่นิยมนำมาใช้เพื่อควบคุมโรคในระบบทางเดินอาหารและทางเดินหายใจของสัตว์ปีก การให้ยาเพื่อควบคุมโรคในสัตว์อาจถ่ายทอดการดื้อยาไปยังเชื้อจุลชีพที่เป็นสาเหตุการเกิดโรคในคนจึงมีความพยายามที่จะใช้ยาต้านจุลชีพเท่าที่เท่าที่จำเป็นในสัตว์เพื่อการบริโภค ซึ่งฟาร์มบางแห่งอาจยังมีการให้ยาเพื่อควบคุมโรค

หลักการและเหตุผล

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพการผลิตไก่เนื้อ ในกลุ่มที่มีการให้ยา 2 ชนิด ในการเลี้ยง ด้วยยาต้านมัยโคพลาสมากลุ่ม macrolide คือ ทิลมิโคซิน (tilmicosin) ให้ในช่วงอายุ 3 วันแรก และอม๊อกซิซิลลิน (amoxicillin) ในช่วงอายุ 24 – 26 วัน เพื่อควบคุมโรค (metaphylaxis) แทรกซ้อนกลุ่มอาการ complex chronic respiratory disease (CCRD) ซึ่งเกิดจากการติดเชื้อ *Mycoplama* ร่วมกับเชื้อ *E. coli* มีประโยชน์ต่อการควบคุมการป่วย การตาย การเติบโตของไก่เนื้อ และการคัดซากทิ้งที่โรงฆ่าหรือไม่อย่างไร เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ให้ยา แต่มีการให้อาหารเสริมโปรตีนที่ได้จากการหมักมันฝรั่ง (fermented potato protein) โดยที่มีการอ้างอิงจากการทดลองของผู้ผลิตว่าสามารถช่วยด้านอัตราการแลกเนื้อและการเจริญเติบโตให้ดีขึ้น โดยให้ไก่กินช่วงอายุ 1 – 14 วันและกลุ่มการเลี้ยงปกติเดิมที่มีการให้สารสกัดจากกระเทียมร่วมกับน้ำมันหอมระเหย (essential oil) ที่มีการใช้อยู่แล้วในฟาร์ม ณ เวลานั้น โดยคุณลักษณะของไก่เนื้อในโครงการวิจัยนี้จะเปรียบเทียบจากการประเมินคะแนนรอยโรคถุงลมช่องอก ซึ่งสังเกตด้วยตาเปล่าและท่อลมซึ่งสังเกตจากจุลพยาธิวิทยาจากการสุ่มไก่มาผ่าซากที่โรงฆ่าประเมินในด้าน ร้อยละของไก่ที่มีชีวิต น้ำหนักตัวไก่เฉลี่ย อัตราการแลกเนื้อและร้อยละที่พบซีอาร์ดี และมีการตรวจวัดระดับแอนติบอดีต่อโรคนิวคาสเซิล (Newcastle disease) โรคหลอดลมอักเสบติดต่อ (infectious bronchitis) และโรคกัมโบโร (infectious bursal disease)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. <u>จัดเตรียมไก่เนื้ออายุ 1 วัน จำนวน 135,000 ตัว</u>

ไก่เนื้อที่จัดเตรียมต้องมาจากฝูงพ่อแม่พันธุ์เดียวกันที่มีสุขภาพดี ที่ได้รับวัคซีนเชื้อเป็นนิวคาสเซิล(B1) และหลอดลมอักเสบติดต่อ (H120) ด้วยวิธีพ่นละอองและวัคซีนเชื้อตายนิวคาสเซิล เวคเตอร์วัคซีนและกัมโบโร ด้วยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังที่โรงฟัก จากนั้นลูกไก่จากโรงฟักจะถูกนำมาเลี้ยงในโรงเรือนจำนวน 9 โรงเรือนๆ ละประมาณ 15,000 ตัว รวมทั้งสิ้นประมาณ 135,000 ตัว โดยมีหมายเลขโรงเรือน 28– 33

เป็นไก่เพศผู้ (รวม 6 โรงเรือน) และหมายเลขโรงเรือน 19 – 21 เป็นไก่เพศเมีย (รวม 3 โรงเรือน) โดยแบ่งโรงเรือนเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 โรงเรือนหมายเลข 20, 28 และ 31

กลุ่มที่ 2 โรงเรือนหมายเลข 21, 29 และ 32

กลุ่มที่ 3 โรงเรือนหมายเลข 19, 30 และ 33

แต่ละโรงเรือนต้องมีระบบการให้น้ำและอาหารแบบเดียวกันโดยให้ไก่กินอย่างอิสระ เป็นโรงเรือนระบบปิด (evaporative cooling system) ที่มีระบบการจัดการที่เป็นมาตรฐานเดียวกัน

2. <u>ชั่งน้ำหนักไก่อายุ 1 วัน ประเมินรอยโรคถุงลมช่องอกด้วยตาเปล่า และ swab ป้ายเชื้อที่ถุงไข่แดงตรวจหาสารพันธุกรรมมัยโคพลาสมา</u>

ทำการสุ่มชั่งน้ำหนักไก่อายุ 1 วัน โรงเรือนละ 800 ตัว รวม 7,200 ตัว เพื่อหาค่าเฉลี่ยเริ่มต้นของน้ำหนักไก่ หลังจากนั้นทำการสุ่มไก่จำนวน 30 ตัว/เล้า เฉพาะเล้าหมายเลข 20, 21 และ 19 และทำการุณยฆาตเพื่อผ่าซากประเมินรอยโรคถุงลมช่องอกสังเกตด้วยตาเปล่าตามวิธีการของ Kleven et al. (1972) และใช้ cotton swab ป้ายเชื้อที่ถุงไข่แดงของไก่แต่ละตัว จากนั้นจุ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อมัยโคพลาสมา โดยรวมตัวอย่างที่ป้ายเชื้อจากไก่ 3 ตัว เป็น 1 ตัวอย่าง รวมเป็น 10 ตัวอย่างเพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของ*มัยโคพลาสมา กัลป์ลิเซพติกุม* หรือเอ็มจี (*Mycoplasma gallisepticum* หรือ MG) และมัยโคพลาสมาซิโนวิอีหรือเอ็มเอส (*Mycoplasma synoviae* หรือ MS) ด้วยวิธีพีซีอาร์ ดังนี้

กลุ่มที่ 1 โรงเรือนหมายเลข 20, 28 และ 31 ให้ยา tilmicosin ขนาด 15 มก./กก. ผสมน้ำกินทั้งวัน เป็นเวลา 3 วัน (อายุ 1 – 3 วัน) และให้ยาอม็อกซิซิลลิน (amoxicillin) ขนาด 20 มก./กก. ผสมน้ำกินทั้งวัน เป็นเวลา 3 วัน (อายุ 24, 25 และ 26 วัน)

กลุ่มที่ 2 โรงเรือนหมายเลข 21, 29 และ 32 ให้อาหารเสริมโปรตีน (Lianol® solution) ตามเอกสารของบริษัทผู้ผลิตอ้างว่าเป็นสารตั้งต้นในการเผาผลาญ (prometabolic regulator) ให้มีประสิทธิภาพเพื่อทำให้ไก่เนื้อมีคุณลักษณะที่ดี และอาจช่วยให้ตับทำงานได้มีประสิทธิภาพ โดยใช้ขนาด 1 มล./น้ำหนักไก่ 10 กก. ผสมน้ำกิน (กินให้หมดภายใน 4 ชั่วโมง) เป็นเวลา 14 วัน (อายุ 1 – 14 วัน)

กลุ่มที่ 3 โรงเรือนหมายเลข 19, 30 และ 33 เป็นกลุ่มควบคุม ไม่ให้ยาและไม่ให้อาหารเสริมโปรตีน ซึ่งฟาร์มดังกล่าวมีการให้ผลิตภัณฑ์สารสกัดจากกระเทียม (Garlicon®) ตามเอกสารของบริษัทผู้ผลิตอ้างว่าอาจช่วยกระตุ้นความอยากอาหารและกระตุ้นการย่อยอาหาร และ น้ำมันหอมระเหย (Mentofin®) ได้จากพืชยูคาลิปตัส (eucalyptus) และ เปปเปอร์มินท์ (peppermint) ตามเอกสารของบริษัทผู้ผลิตอ้างว่าอาจช่วยป้องกันการแพ้วัคซีนและปัญหาทางเดินหายใจ โดยมีวิธีการให้ที่อายุต่างๆ เป็นเวลา 38 วัน (ตารางที่ 1)

เลี้ยงไก่ตามมาตรฐานของฟาร์มจนกระทั่งอายุ 7 วันให้วัคซีนนิวคาสเซิล (La Sota Clone 30) เชื้อเป็นด้วยการสเปรย์และที่ไก่อายุ 14 วันให้วัคซีนกัมโบโร (Intermediate plus) เชื้อเป็นด้วยการละลายน้ำกิน

<u>ตารางที่ 1</u> : แสดงปริมาตรของ Garlicon® และ Mentofin® ที่ผสมในน้ำที่ให้ไก่กินต่อ 1,000 ลิตร ที่ไก่อายุต่างๆ

อายุ (วัน)	Garlicon® (มล.)	Mentofin® (มล.)
1-5	60	
9-11	60	150
15-17	120	
18-21		150
22-24	120	
25-28		150
29-31	180	
32-35		150
36-38	180	

3. <u>เจาะเลือดจำนวน 2 ครั้ง ในวันที่ไก่อายุ 28 วัน และ 37 วันตรวจหาระดับแอนติบอดีและประเมินรอยโรคถุงลมช่องอกด้วยตาเปล่าและเก็บท่อลมแช่ในฟอร์มาลินประเมินรอยโรคทางจุลชีววิทยา</u>

3.1 ทำการสุ่มไก่เพื่อเจาะเลือดจากเส้นเลือดดำที่ปีก (brachial vein) จำนวน 30 ตัว/โรงเรือน เฉพาะโรงเรือนหมายเลข 19, 20 และ 21 เพื่อตรวจสอบ

1. ตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อโรคนิวคาสเซิลด้วยวิธีเอชไอ (hemagglutination inhibition : HI) ใช้วิธีการตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อโรคนิวคาสเซิลตามวิธีการของ Hsiung (1982)

2. ตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อและโรคกัมโบโรด้วยวิธีอีไลซา (ELISA) โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูปของ ProFLOK IBD หรือ IBV ของ Synbiotic Corporation, San Diego, CA. นำซีรัมที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ –20 °ซ มาละลายที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นดำเนินการตามวิธีการของชุดทดสอบโดยมีวิธีการอย่างย่อคือทำการเจือจางซีรัมจากนั้นนำไปใส่เพลท (plate) ชุดทดสอบที่มีการเคลือบด้วยแอนติเจนของกัมโบโร (IBD) หรือหลอดลมอักเสบติดต่อ (IBV) และล้างปฏิกิริยาส่วนเกินออก จากนั้นจึงเติมคอนจูเกต (goat anti-chicken IgG (H+L) peroxidase conjugate) ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ล้างคอนจูเกตส่วนเกินออก เติมซับสเตรต (substrate) ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที จึงเติมสารหยุดปฏิกิริยา (stop solution) แล้วนำเพลทไปอ่านที่เครื่องอ่านที่ความยาวคลื่นแสง 405-410 นาโนเมตร ทุกขั้นตอนดำเนินการที่อุณหภูมิห้อง การแปลผลระดับแอนติบอดีที่ให้ผลบวกต่อโรคกัมโบโรต้องเท่ากับหรือสูงกว่า 554

3.2 ทำการสุ่มไก่จำนวน 10 ตัว/โรงเรือน เฉพาะโรงเรือน หมายเลข 19, 20 และ 21 และทำการุณยฆาตเพื่อผ่าซากประเมินรอยโรคถุงลมช่องอกสังเกตด้วยตาเปล่าและเก็บท่อลมแช่ในฟอร์มาลินเข้มข้น 10% เพื่อประเมินรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาตามวิธีการของ Kleven et al. (1972) และ Yagihashi and Tajima (1986) ตามลำดับ โดยที่ผู้ประเมินรอยโรคนั้นจะไม่ทราบกลุ่มไก่ก่อนการประเมิน (blind evaluation)

4. <u>ป้ายเชื้อที่ร่องเพดานปากด้านบน (choanal cleft) ตรวจหาสารพันธุกรรมมัยโคพลาสมาไก่ที่อายุ 37 วัน</u>

ทำการสุ่มไก่จำนวน 30 ตัว ใช้ cotton swab ป้ายเชื้อที่ร่องเพดานปากด้านบน (choanal cleft) จากนั้นจุ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อมัยโคพลาสมา โดยรวมตัวอย่างที่ป้ายเชื้อจากไก่ 3 ตัว เป็น 1 ตัวอย่าง รวมเป็น 10 ตัวอย่างเพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของ *Mycoplasma gallisepticum* และ *Mycoplasma synoviae* ด้วยวิธีพีซีอาร์

การตรวจหาสารพันธุกรรมทำโดยการใช้ก้านสำลีที่ป้ายเชื้อแล้วนำมาจุ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (Frey's broth) นำมาสกัดหาสารพันธุกรรมตามวิธีดำเนินการของ Lauerman (1996) ซึ่งมีวิธีการอย่างย่อๆ คือ นำมาต้มที่ 100 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที หลังจากนั้นเก็บที่ -20 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที และนำมาปั่นด้วยความเร็วรอบ 15,000 x g เวลา 5 นาที เก็บรักษาที่ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ ส่วนขั้นตอนการเตรียมผสม PCR ซึ่งมีปริมาตรทั้งหมด 50 µl ประกอบด้วย KCl 500 mM, Tris-HCl (pH 8.3) 100 mM, $MgCl_2$ 2.5 mM, dNTP (Fermentas) 1 mM, primer MG13 F (5'GAGCTAATCTGTAAAGTTGGTC3') และ primer MG14 R (5'GCTTCCTTGCGGTTAGCAAC3') (Qiagen) ชนิดละ 10 pmole, Taq polymerase (Fermentas) 1.25 units และสารพันธุกรรมที่สกัดได้ปริมาตร 5 µl ซึ่งมีปริมาณสารพันธุกรรมประมาณ 250 ng ซึ่งทุกครั้งที่เตรียมปฏิกิริยาพีซีอาร์จะมีเชื้อเอ็มจี เสตรนS6 (ATCC-15302) เป็นตัวควบคุมบวก และเชื้อเอ็มเอสเสตรน WVU 1853 (ATCC-25204) เป็นตัวควบคุมลบ จากนั้นนำมาเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง DNA thermal cycler (PCR Sprint, Thermo Electron Corporation, Milford, MA) ซึ่งมีปฏิกิริยาดังนี้คือ 94 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที 55 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที และ 72 องศาเซลเซียส เวลา 60 วินาทีจำนวน 40 รอบ และตามด้วย 72 องศาเซลเซียส เวลา 5 นาที ซึ่งผลิตภัณฑ์ชิ้นส่วนที่ได้คือ 185 base pairs จากนั้นนำมาแยกด้วยกระแสไฟฟ้า (electrophoresis) ใน 2% agarose (Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sweden) ย้อมด้วย ethidium bromide และดูผลโดยใช้เครื่องมองภาพผ่านแสงยูวี (UV transilluminator) และบันทึกภาพสำหรับการตรวจหาสารพันธุกรรมต่อเชื้อเอ็มเอสนั้นมีหลักการเช่นเดียวกับของเชื้อเอ็มจี ทุกขั้นตอนแตกต่างกันที่ primers ที่ใช้ primers ของสารพันธุกรรมเอ็มเอส คือ primer MSL-1 F(5'-GAGAAGCAAAATAGTGATATCA-3') และ primer MSL-2 R (5'-CAGTCGTCTCCGAAGTTAACAA-3') (Qiagen) และจะมีเชื้อเอ็มเอสเสตรน WVU 1853 (ATCC-25204) เป็นตัวควบคุมบวก และเชื้อเอ็มจี เสตรน S6 (ATCC-15302) เป็นตัวควบคุมลบแทน ซึ่งผลิตภัณฑ์ชิ้นส่วนที่ได้คือ 207 คู่เบส

5. <u>ให้คะแนนรอยโรคของถุงลมช่องอกและท่อลม</u>

5.1 ให้คะแนนรอยโรคของถุงลมช่องอกทางมหพยาธิวิทยา

คะแนนรอยโรคของถุงลมช่องอกทางพยาธิวิทยาดำเนินการตามวิธีของ Kleven และคณะ (1972) โดยมีคะแนนรอยโรคดังนี้

0 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคที่สังเกตได้

1 เยื่อถุงลมขุ่นเล็กน้อย

2 เยื่อถุงลมหนาตัวขึ้นและมีหนองคลุมเล็กน้อย

3 เยื่อถุงลมหนาตัวชัดเจนและมีหนองคลุมมากโดยพบรอยโรคเพียง 1 ถุง

4 รอยโรคเช่นเดียวกับข้อ 3 พบรอยโรคมากกว่า 1 ถุง

คะแนนรอยโรคของถุงลมไก่แต่ละตัวพิจารณาจากผลรวมของคะแนนรอยโรคถุงลมข้างซ้ายและขวา โดยผลรวมของคะแนนรอยโรคของถุงลมไก่แต่ละตัวมากสุดคือ 8

5.2 การให้คะแนนรอยโรคของท่อลมทางจุลพยาธิวิทยา

ทำการตรึงสภาพชิ้นเนื้อท่อลมของไก่แต่ละตัวในสารละลายบัฟเฟอร์ฟอร์มาลินที่มีความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปผ่านขบวนการเตรียมเนื้อเยื่อ (tissue processing) ทำการตัดชิ้นเนื้อท่อลมของไก่แต่ละตัวตามตำแหน่งต่างๆ ออกเป็น 4 ชิ้น เพื่อศึกษารอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาโดยการย้อมด้วยสีฮีมาท๊อกซีลินและอิโอซิน (hematoxylin and eosin; H & E) นำไปตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ ให้คะแนนรอยโรคทางจุลพยาธิของท่อลมด้วยหลักการให้คะแนนตามวิธีของ Yagihashi และ Tajima (1986) ดังนี้

0 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคที่สังเกตได้

1 พบการรวมกลุ่มของเม็ดเลือดขาวโดยเฉพาะลิมโฟซัยท์ปริมาณเล็กน้อย

2 เยื่อบุท่อลมหนาตัวขึ้นและมีการแทรกของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ พบการบวมน้ำและเยื่อบุมีการเสื่อมสลายและตาย

3 เยื่อบุท่อลมหนาตัวชัดเจนและพบได้หลายบริเวณ

คะแนนรอยโรคของท่อลมไก่แต่ละตัวทางจุลพยาธิวิทยาพิจารณาจากผลรวมของคะแนนรอยโรคของชิ้นเนื้อท่อลมทั้ง 4 ชิ้น โดยผลรวมของคะแนนรอยโรคของท่อลมไก่แต่ละตัวมากสุดคือ 12

6. <u>ประเมินปริมาณอาหารที่ไก่กิน น้ำหนักไก่และคุณลักษณะไก่ที่อายุ 40 - 42 วัน</u>

6.1 สำหรับไก่เพศผู้ บันทึกปริมาณอาหารที่ไก่กินตั้งแต่อายุ 1 – 40 วัน แล้วชั่งน้ำหนักไก่โดยรวม ณ โรงฆ่าที่อายุ 40 วัน

6.2 สำหรับไก่เพศเมีย บันทึกปริมาณอาหารที่ไก่กินตั้งแต่อายุ 1 – 42 วัน แล้วชั่งน้ำหนักไก่โดยรวม ณ โรงฆ่าที่อายุ 42 วัน

6.3 ประเมินคุณลักษณะของไก่เนื้อในด้านร้อยละของไก่ที่มีชีวิต น้ำหนักตัวไก่เฉลี่ย อัตราการแลกเนื้อและร้อยละที่พบซีอาร์ดี

7. <u>การวิเคราะห์ทางสถิติ</u>

คะแนนเฉลี่ยรอยโรคของถุงลมช่องอกประเมินด้วยตาเปล่า คะแนนของท่อลมที่ประเมินทางจุลพยาธิวิทยา และร้อยละที่พบซีอาร์ดี วิเคราะห์ทางสถิติด้วย non-parametric test และวิเคราะห์ความแตกต่างด้วย Mann-Whitney test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % สำหรับร้อยละของไก่ที่มีชีวิต น้ำหนักตัวไก่เฉลี่ย และอัตราการแลกเนื้อ วิเคราะห์ทางสถิติด้วย analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

ผลการศึกษา

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า

1. ผลการประเมินรอยโรคลูกไก่ที่อายุ 1 วัน ไม่พบรอยโรคใดๆ ที่ถุงลม รวมถึงที่อวัยวะอื่นๆ ที่สังเกตด้วยตาเปล่า

2. ผลเจาะเลือดหาระดับแอนติบอดีและประเมินรอยโรคไก่ พบว่า

2.1 ผลเจาะเลือดจำนวน 2 ครั้ง ในวันที่ไก่อายุ 28 วัน และ 37 วัน ตรวจหาระดับแอนติบอดีและประเมินรอยโรคถุงลมช่องอกด้วยตาเปล่าและเก็บท่อลมแช่ในฟอร์มาลินประเมินรอยโรคทางจุลชีววิทยา

2.1.1 ค่าเฉลี่ยแอนติบอดีต่อโรคนิวคาสเซิล (geometric mean titer; GMT) ที่ตรวจโดยวิธีเอชไอของไก่เนื้ออายุ 28 และ 37 วัน ของกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 จำนวน 30 ตัวอย่างของแต่ละกลุ่ม คือ ระหว่าง $2^{1.43}$–$2^{1.57}$และ $2^{1.77}$–$2^{2.33}$ ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

<u>ตารางที่ 2</u> : ค่าเฉลี่ยแอนติบอดีต่อโรคนิวคาสเซิลที่ตรวจโดยวิธีเอชไอของไก่เนื้ออายุ 28 และ 37 วัน ($\log_2$HI titer) (n = 30)

กลุ่ม	28 วัน		37 วัน	
	GMT	%CV	GMT	%CV
1	1.63	49.61	1.77	70.66
2	1.43	57.15	2.33	49.56
3	1.57	79.67	1.90	54.15

% CV : คือ ร้อยละของสัมประสิทธิ์ความผันแปร (% coefficient variance)

2.1.2 ค่าเฉลี่ยแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อที่ตรวจโดยวิธีอีไลซาของไก่เนื้ออายุ 28 วัน ของกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 คือ ระหว่าง 55 – 452 ซึ่งพบจำนวนตัวอย่างที่มีระดับแอนติบอดีถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 2 ขึ้นไปจำนวน 20 – 26 ตัวอย่าง จากจำนวนที่ตรวจทั้งหมด 30 ตัวอย่าง สำหรับไก่เนื้อที่อายุ 37 วัน ของกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีค่าเฉลี่ยแอนติบอดี 587 – 2356 ซึ่งพบจำนวนตัวอย่างที่มีระดับ

แอนติบอดีถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 2 ขึ้นไปจำนวน 14 – 29 ตัวอย่างจากจำนวนที่ตรวจทั้งหมด 30 ตัวอย่างของแต่ละกลุ่ม (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 : ค่าเฉลี่ยแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อที่ตรวจโดยวิธีอีไลซาของไก่เนื้ออายุ 28 และ 37 วัน (n = 30)

กลุ่ม	28 วัน				37 วัน			
	Mean	GMT	%CV	≥ Group 2*	Mean	GMT	%CV	≥ Group 2*
1	452	6	188.7	22	2356	497	96.3	23
2	116	7	103.9	20	986	111	100.1	14
3	55	2	113.8	26	587	42	118.1	29

* จำนวนตัวอย่างที่ระดับแอนติบอดีถูกจัดอยู่ในกลุ่ม 2 หรือสูงกว่า

2.1.3 ค่าเฉลี่ยแอนติบอดีต่อโรคกัมโบโรที่ตรวจโดยวิธีอีไลซาของไก่เนื้ออายุ 28 วัน ของกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 คือ ระหว่าง 962 – 1990 ซึ่งพบจำนวนตัวอย่างที่มีระดับแอนติบอดีอยู่ในกลุ่มที่ 2 ขึ้นไปจำนวน 15 – 25 ตัวอย่างจากจำนวนที่ตรวจทั้งหมด 30 ตัวอย่าง สำหรับไก่เนื้อที่อายุ 37 วัน ของกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 มีค่าเฉลี่ยแอนติบอดี 3061 – 3312 ซึ่งพบจำนวนตัวอย่างที่มีระดับแอนติบอดีอยู่ในกลุ่มที่ 2 ขึ้นไปจำนวน 29 – 30 ตัวอย่างจากจำนวนที่ตรวจทั้งหมด 30 ตัวอย่างของแต่ละกลุ่ม (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 :ค่าเฉลี่ยแอนติบอดีต่อโรคกัมโบโรที่ตรวจโดยวิธีอีไลซาของไก่เนื้ออายุ 28 และ 37 วัน (n = 30)

กลุ่ม	28 วัน				37 วัน			
	Mean	GMT	%CV	≥ Group 2*	Mean	GMT	%CV	≥ Group 2*
1	1173	87	85.61	18	3148	2322	37.18	29
2	962	42	92.2	15	3061	2841	31.71	30
3	1990	578	63.18	25	3312	2455	36.12	29

* จำนวนตัวอย่างที่ระดับแอนติบอดีถูกจัดอยู่ในกลุ่ม 2 หรือสูงกว่า

2.2 ผลการประเมินรอยโรคของถุงลมช่องอกที่ประเมินด้วยตาเปล่าและรอยโรคของท่อลมที่ประเมินทางจุลพยาธิวิทยา พบว่า

คะแนนเฉลี่ยรอยโรคของถุงลมช่องอกที่ประเมินด้วยตาเปล่าของไก่เนื้ออายุ 28 และ 37 วัน กลุ่มที่ 1, 2 และ 3 คือ ระหว่าง 0.2–0.5 และ 1.05–1.25 ตามลำดับ โดยแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนคะแนนเฉลี่ยรอยโรคของท่อลมที่ประเมินทางจุลพยาธิวิทยาของไก่เนื้ออายุ 28 และ 37 วัน กลุ่มที่ 1, 2 และ 3 คือ ระหว่าง 1.60–2.18 และ 1.93–2.68 ตามลำดับ โดยแต่ละกลุ่มพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ทั้งในไก่ที่อายุ 28 และ 37 วัน โดยไก่อายุ 28 วัน กลุ่มที่ 1 มีค่าเฉลี่ยรอยโรคสูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ 2 และ 3 สำหรับไก่ที่อายุ 37 วัน กลุ่มที่ 2 และกลุ่มที่ 1 มีคะแนนรอยโรคสูงและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 3 (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 : คะแนนเฉลี่ยรอยโรคของถุงลมช่องอกที่ประเมินด้วยตาเปล่า (grossly airsac lesion scores) และคะแนนของท่อลมที่ประเมินทางจุลพยาธิวิทยา (microscopically tracheal lesion scores) ของไก่เนื้ออายุ 28 และ 37 วัน (mean± SD) (n = 10)

กลุ่ม	คะแนนเฉลี่ยรอยโรคของถุงลม		คะแนนเฉลี่ยรอยโรคของท่อลม	
	28 วัน	37 วัน	28 วัน	37 วัน
1	0.20 ± 0.42	1.05 ± 0.28	2.18 ± 0.47[a]	2.50 ± 0.55[a]
2	0.30 ± 0.35	1.25 ± 0.35	1.63 ± 0.46[b]	2.68 ± 0.31[a]
3	0.50 ± 0.41	1.05 ± 0.28	1.60 ± 0.63[b]	1.93 ± 0.29[b]

[a, b] ตัวอักษรที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3. ผลการ swab ป้ายเชื้อที่ถุงไข่แดงของไก่ที่อายุ 1 วัน และ ป้ายเชื้อที่ร่องเพดานปากด้านบนของไก่ที่อายุ 37 วัน ตรวจสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจี และสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มเอส พบว่า

จำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจี ในไก่เนื้ออายุ 1 วัน ของกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 จากจำนวน 10 ตัวอย่างที่ตรวจของแต่ละกลุ่ม พบสารพันธุกรรม 8, 9 และ 3 ตัวอย่างตามลำดับ และไก่เนื้ออายุ 37 วัน พบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีทุกตัวอย่าง ขณะที่ผลการตรวจสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มเอสไก่เนื้ออายุ 1 วันของกลุ่มที่ 1, 2 และ 3 จากจำนวน 10 ตัวอย่างที่ตรวจของแต่ละกลุ่ม คือ ไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มเอสทุกตัวอย่าง และไก่เนื้ออายุ 37 วันจากจำนวน 10 ตัวอย่างที่ตรวจของแต่ละกลุ่ม พบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มเอสทุกตัวอย่าง (ตารางที่ 6)

<u>ตารางที่ 6</u>: จำนวนตัวอย่างที่มีสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีและเอ็มเอสที่ตรวจสอบด้วยวิธีพีซีอาร์ของไก่เนื้ออายุ 1 และ 37 วัน (n = 10)

กลุ่ม	ไก่อายุ 1 วัน (จำนวนตัวอย่างที่พบ/จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ)		ไก่อายุ 37 วัน (จำนวนตัวอย่างที่พบ/จำนวนตัวอย่างที่ตรวจ)	
	เอ็มจี	เอ็มเอส	เอ็มจี	เอ็มเอส
1	8/10*	0/10*	10/10	10/10
2	9/10	0/10	10/10	10/10
3	3/10	0/10	10/10	10/10

*(จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวก/จำนวนตัวอย่างที่ตรวจทั้งหมด)

4. ผลการประเมินปริมาณอาหารที่ไก่กิน น้ำหนักไก่และคุณลักษณะไก่ที่อายุ 40-42 วัน พบว่า

คุณลักษณะของไก่เนื้อแต่ละโรงเรือนที่ส่งเข้าโรงฆ่าที่อายุ 40 วันสำหรับตัวผู้ และอายุ 42 วันสำหรับตัวเมีย ทั้ง 3 กลุ่ม พบว่าร้อยละของไก่ที่มีชีวิตระหว่าง 95.45 – 97.04 น้ำหนักตัวไก่เฉลี่ยระหว่าง 2.49 – 2.57 อัตราการแลกเนื้อระหว่าง 1.72 – 1.75 และร้อยละที่พบซีอาร์ดี 1.09 – 2.46 (ตารางที่ 7)

<u>ตารางที่ 7</u>: คุณลักษณะของไก่เนื้อแต่ละโรงเรือนที่ส่งเข้าโรงฆ่าที่อายุ 40 วันสำหรับตัวผู้ และอายุ 42 วันสำหรับตัวเมีย (n = 3)

กลุ่ม	ร้อยละของไก่ที่มีชีวิต	น้ำหนักตัวไก่เฉลี่ย (กก.)	อัตราการแลกเนื้อ	ร้อยละที่พบซีอาร์ดี
1	97.03 ± 0.45	2.57 ± 0.22	1.72 ± 0.10	1.09 ± 0.33
2	95.45 ± 1.17	2.49 ± 0.25	1.75 ± 0.16	2.46 ± 1.33
3	97.04 ± 0.90	2.50 ± 0.25	1.72 ± 0.15	2.10 ± 0.87

ภายในคอลัมน์เดียวกันไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

วิจารณ์ผล

การศึกษาครั้งนี้เป็นการเปรียบเทียบผลในด้านการป่วย การตาย และคุณลักษณะของไก่เนื้อระหว่างกลุ่มที่ 1 การให้ยาทิลมิโคซินช่วงอายุ 3 วันแรก และอม็อกซิซิลลินในช่วงอายุ 24 – 26 วัน กลุ่มที่ 2 อาหารเสริมโปรตีนที่ได้จากมันฝรั่งหมักผสมน้ำกินช่วงอายุ 1 - 14 วันแรก และกลุ่มที่ 3 ซึ่งไม่ให้ยาและไม่ให้อาหารเสริมโปรตีนซึ่งฟาร์มดังกล่าวมีการให้ผลิตภัณฑ์สารสกัดจากกระเทียม และ น้ำมันหอมระเหย การให้ยาในลักษณะดังกล่าวเป็นการปฏิบัติที่ยังพบได้ในการเลี้ยงไก่เนื้อบางแห่ง โดยเป็นการให้ยาต้านจุลชีพหลังการทำวัคซีน ซึ่งลูกไก่อายุ 1 วันของแต่ละกลุ่มนั้นพบผลบวกต่อสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจี แต่ไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มเอส แสดงให้เห็นว่าลูกไก่ได้รับเชื้อเอ็มจีที่ถ่ายทอดมาจากแม่ ดังนั้นมีโอกาสที่กลุ่มไก่ที่ทำการศึกษามีแนวโน้มที่จะแสดงอาการโรคทางเดินหายใจ หรือปัญหาโรคถุงลมอักเสบ รวมทั้งง่ายต่อการแพ้วัคซีน (Smits et al., 1976; Raviv and Ley, 2014) การที่ผู้วิจัยเลือกกลุ่มไก่ที่ติดเชื้อเอ็มจีมาทำการศึกษาเพื่อจะได้ผลการศึกษาที่ชัดเจนว่าการให้ยาต้านจุลชีพ หรือการใช้สารเสริมโปรตีน รวมทั้งการใช้ผลิตภัณฑ์สารสกัดกระเทียมร่วมกับน้ำมันหอมระเหยว่าได้ผลแตกต่างกันหรือไม่

ผลการตอบสนองแอนติบอดีต่อวัคซีนป้องกันโรคที่สำคัญของไก่เนื้อคือ โรคหลอดลมอักเสบติดต่อ โรคนิวคาสเซิล และโรคกัมโบโร พบว่าทุกกลุ่มสามารถตอบสนองต่อการได้รับวัคซีนป้องกันโรคหลอดลมอักเสบติดต่อ และกัมโบโร เมื่อตรวจด้วยวิธีอีไลซา พบจำนวนตัวอย่างของแอนติบอดีที่ถูกจัดเป็นบวก (titer group $\geq$ 2) เฉลี่ยมากกว่า 15 ตัวอย่างต่อกลุ่ม ยกเว้นแอนติบอดีต่อโรคหลอดลมอักเสบติดต่อของไก่กลุ่มที่ 2 อายุ 37 วัน พบจำนวน 14 ตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่าไก่ทุกกลุ่มมีสุขภาพดีสามารถตอบสนองต่อการได้รับวัคซีน อย่างไรก็ตามสำหรับแอนติบอดีต่อวัคซีนป้องกันโรคหลอดลมอักเสบติดต่อนั้นพบว่าร้อยละของสัมประสิทธิ์ความผันแปร (% coefficient variance; % CV) สูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับแอนติบอดีต่อโรคอื่น เนื่องจากการให้วัคซีนด้วยวิธีพ่นละอองที่โรงฟักอาจทำให้ตัวไก่ไม่ได้รับวัคซีนทั่วถึงจึงมีผลต่อความสม่ำเสมอของแอนติบอดีในตัวไก่ สำหรับการตอบสนองต่อวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลเมื่อตรวจด้วยวิธีเอชไอนั้น มีการให้วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลทั้งเชื้อเป็นด้วยการพ่นละออง เชื้อตาย และเวคเตอร์วัคซีน ที่อายุ 1 วัน พบว่าค่าเฉลี่ยของแอนติบอดีค่อนข้างต่ำทั้งที่อายุ 28 และ 37 วัน มีค่าระหว่าง $2^{1.43}$ - $2^{2.33}$ แต่ร้อยละของค่าสัมประสิทธิ์ความผันแปรอยู่ระดับไม่แตกต่างกันมาก อาจเนื่องจากผลของการตอบสนองต่อวัคซีนเชื้อตาย โดยวัคซีนเชื้อตายที่ให้ด้วยการฉีดนั้นจะช่วยเรื่องความสม่ำเสมอของระดับแอนติบอดี (สมศักดิ์ และคณะ, 2546) รายงานว่าค่าเฉลี่ยแอนติบอดีต่อโรคนิวคาสเซิลของไก่เนื้อที่อายุ 28 และ 35 วัน ต่ำกว่า $2^{1.1}$ หากได้รับเชื้อพิษทับนิวคาสเซิล ไก่เหล่านี้จะตายทุกตัว อย่างไรก็ตาม ฟาร์มดังกล่าวมีการให้เวคเตอร์วัคซีน ซึ่งเป็นวัคซีนที่ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อโรคนิวคาสเซิล แต่วิธีเอชไอนั้นจะไม่สามารถตรวจหาระดับแอนติบอดีต่อการตอบสนองต่อวัคซีนชนิดนี้ ดังนั้นทุกฟาร์มจึงต้องมีความเข้มงวดเรื่องความปลอดภัยทางชีวภาพ

การตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีที่ไก่อายุ 1 วัน แต่ไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มเอส แสดงว่าไก่พบการติดเชื้อเฉพาะเอ็มจีที่ติดมาจากแม่ แต่เมื่อเลี้ยงไก่จนกระทั่งอายุ 37 วัน พบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีและเอ็มเอสในไก่ทุกกลุ่มและทุกตัวอย่างที่ตรวจ แสดงว่าไก่ทุกกลุ่มที่ได้รับยาต้าน

จุลชีพคือ ยาทิลมิโคซินระยะเวลา 3 วัน ตามข้อบ่งใช้ในฉลาก สารเสริมโปรตีน และสารสกัดกระเทียมร่วมกับน้ำมันหอมระเหย ไม่มีประสิทธิภาพต่อการกำจัดเชื้อเอ็มจีที่ติดมาจากแม่ สำหรับอม๊อกซิซิลลินเป็นยาออกฤทธิ์กว้างที่ให้เพื่อช่วยควบคุมโรคระบบทางเดินหายใจและทางเดินอาหาร ข้อบ่งใช้ในฉลากยาไม่ออกฤทธิ์ต่อ *Mycoplasma* อย่างไรก็ตามการติดเชื้อเอ็มจีและเอ็มเอสอาจเกิดขึ้นภายหลังจากที่เลี้ยงในโรงเรือน ถ้าหากโรงเรือนมีการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรคไม่ดีพอหรืออาจเกิดจากการติดเชื้อจากภายนอกโรงเรือนเข้ามาสู่ภายในโรงเรือน เป็นต้น ยาทิลมิโคซินเป็นยาต้านจุลชีพมัยโคพลาสมาที่ถูกดูดซึมและกระจายตัวได้รวดเร็วไปที่ปอด และถุงลม รวมถึงแทรกผ่านเข้าไปในเม็ดเลือดขาวแมคโครฟาจ โมโนซัยท์และเฮทเทอโรฟิล ได้ (Warren et al.,1997; Scorneaux et al., 1998; Abu-Basha et al., 2007) ซึ่ง Pakpinyo et al. (2008) ได้รายงานการศึกษาไก่เนื้อที่ได้รับเชื้อเอ็มจีแล้วได้รับยาทิลมิโคซินเมื่อเปรียบเทียบกับไก่เนื้อที่ได้รับเชื้อเอ็มจีแต่ไม่ได้รับยา พบจำนวนตัวอย่างที่พบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจี 5 และ 7 ตัวอย่าง ตามลำดับซึ่งจำนวนต่างกันเล็กน้อย แต่ไก่เนื้อที่ได้รับยาทิลมิโคซินพบจำนวนไก่ป่วยน้อยกว่า รวมถึงรอยโรคที่พบที่ถุงลมเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าและท่อลมเมื่อสังเกตทางจุลพยาธิวิทยาน้อยกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มไก่ที่ไม่ได้รับยา ส่วนสารสกัดกระเทียม Cross et al. (2011) ได้รายงานผลงานวิจัยจากนักวิจัยหลายคณะที่ศึกษาสารสกัดกระเทียมว่ามีคุณสมบัติต้านจุลชีพ ต้านเชื้อราและต้านอนุมูลอิสระ ส่วนน้ำมันหอมระเหยนั้น Khattak et al. (2014) ได้รายงานผลงานวิจัยจากนักวิจัยหลายคณะที่ศึกษาน้ำมันหอมระเหย ว่ามีคุณสมบัติต้านจุลชีพ ต้านพิษ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านไวรัส ต้านปรสิตและกระตุ้นการทำงานของทางเดินอาหาร ซึ่งคุณสมบัติของสารทั้งสองดังกล่าวไม่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อมัยโคพลาสมาตั้งแต่เริ่มเลี้ยงจนกระทั่งไก่อายุ 37 วัน

คะแนนเฉลี่ยรอยโรคของถุงลมช่องอกที่ประเมินด้วยตาเปล่าและท่อลมที่ประเมินทางจุลพยาธิวิทยาที่อายุ 28 และ 37 วัน นั้น พบว่า คะแนนเฉลี่ยรอยโรคของถุงลมนั้นค่อนข้างต่ำและไม่พบความแตกต่างของไก่ที่อายุ 28 และ 37 วัน แสดงว่าปัญหาถุงลมอักเสบในวันที่ประเมินนั้นพบน้อย ขณะที่คะแนนเฉลี่ยรอยโรคของท่อลมไก่ที่อายุ 28 วัน พบค่อนข้างสูงในกลุ่มที่ 1 (ได้รับยาทิลมิโคซิน และอม๊อก-ซิซิลลิน) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับกลุ่มที่ 2 (ได้รับสารเสริมโปรตีน) และ กลุ่มที่ 3 (ได้รับสารสกัดกระเทียมและน้ำมันหอมระเหย) สำหรับไก่ที่อายุ 37 วัน นั้นคะแนนเฉลี่ยรอยโรคของท่อลมค่อนข้างสูงในกลุ่มที่ 1 และกลุ่มที่ 2 และพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) กับกลุ่มที่ 3 ซึ่งพบคะแนนเฉลี่ยรอยโรคต่ำสุด แสดงให้เห็นว่าไก่กลุ่มที่ 3 ซึ่งควรจะเป็นกลุ่มควบคุมแต่เนื่องจากการทดลองนี้ทำในพื้นที่การเลี้ยงจริงในฟาร์มซึ่งเลี้ยงเป็นจำนวนมาก ซึ่งฟาร์มดังกล่าวมีการให้สารสกัดจากกระเทียมและน้ำมันหอมระเหยอยู่แล้วและเกรงความเสียหายที่จะเกิดขึ้นจากการไม่ใช้ผลิตภัณฑ์ใดเลยจึงได้นำสารสกัดจากกระเทียมและน้ำมันหอมระเหยที่ใช้อยู่เป็นปกติให้ไก่ในกลุ่มที่ 3 แสดงให้เห็นว่าการได้รับสารสกัดที่มีคุณสมบัติที่ดีต่างๆ (Cross et al., 2011; Khattak et al., 2014) สามารถลดปัญหาทางเดินหายใจได้ การที่คะแนนเฉลี่ยรอยโรคของท่อลมไก่ที่อายุ 37 วัน สูงทั้ง 3 กลุ่มนั้น อาจเกิดความผิดพลาดเนื่องจากวันที่ทำการผ่าซากนั้นไก่อยู่ในกล่องพลาสติกและวางนอกอาคารซึ่งสภาพแวดล้อมขณะนั้นค่อนข้างร้อน ทำให้ไก่แสดงอาการหอบ หายใจเสียงดังและเร็ว จึงอาจมีผลต่อคะแนนรอยโรคของท่อลม

คุณลักษณะไก่เนื้อที่อายุ 40 – 42 วันซึ่งถูกประเมินที่โรงฆ่านั้น พบว่ากลุ่มที่ 1 มีแนวโน้มคุณลักษณะดีที่สุด ตามมาด้วยกลุ่มที่ 3 และกลุ่มที่ 2 ตามลำดับ แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยไก่กลุ่มที่ 2 มีคุณลักษณะที่ด้อยสุด คือ ร้อยละของไก่ที่มีชีวิต น้ำหนักตัวไก่เฉลี่ย อัตราการแลกเนื้อ และร้อยละที่พบซีอาร์ดี สำหรับไก่กลุ่มที่ 1 (ได้รับยาทิลมิโคซิน และอม็อกซิซิลลิน) และกลุ่มที่ 3 (ได้รับสารสกัดกระเทียมและน้ำมันหอมระเหย) มีคุณลักษณะไก่เนื้อที่ดีกว่ากลุ่มที่ 2 ในด้านร้อยละของไก่ที่มีชีวิต อัตราแลกเนื้อ ร้อยละที่พบซีอาร์ดี และน้ำหนักตัวไก่เฉลี่ย แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การศึกษาครั้งนี้ไม่ได้คำนวณค่าใช้จ่ายด้านยา หรือสารเสริมโปรตีน หรือสารสกัดกระเทียมและน้ำมันหอมระเหย

ทั้งนี้ปัญหาด้านเชื้อดื้อยาเป็นปัญหาสำคัญอย่างยิ่งสำหรับมนุษย์ในปัจจุบันและอนาคต การดื้อยาต้านจุลชีพเป็นหนึ่งในภัยคุกคามทางสุขภาพที่สำคัญ ปัจจุบันแม้จะยังไม่สามารถประมาณขนาดของปัญหาเชื้อดื้อยาจากสัตว์สู่มนุษย์ แต่จากรายงานการศึกษาที่สำคัญระดับโลกโดยการสนับสนุนของรัฐบาลแห่งสหราชอาณาจักรซึ่งได้เผยแพร่ผลการศึกษาในปี ค.ศ. 2016 เรื่อง Tackling drug-resistant infection globally: Final report and recommendation ซึ่งองค์การอนามัยโลก (WHO) องค์การสุขภาพสัตว์โลก (OIE) และองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) ยอมรับและนำข้อมูลมาใช้อ้างอิง รายงานดังกล่าวคาดว่าปัจจุบันทั่วโลกมีคนเสียชีวิตจากปัญหาการดื้อยาต้านจุลชีพประมาณ 700,000 ราย และหากไม่มีการแก้ปัญหา AMR ในปี ค.ศ. 2050 คาดว่าการเสียชีวิตจะสูงถึง 10 ล้านคนต่อปี ประเมินเป็นความเสียหายทางเศรษฐกิจสูงถึง 3.5 พันล้านล้านบาท (100 trillion USD) โดยทวีปเอเชียและแอฟริกาจะเสียชีวิตมากที่สุด คือ 4.7 และ 4.2 ล้านคน ตามลำดับ (O'Neill J., 2016.)

ประเทศไทยเป็นผู้นำด้านมาตรฐานการเลี้ยงสัตว์ โดยเฉพาะสัตว์ปีกเป็นผู้ส่งออกรายใหญ่อันดับ 4 ของโลก ให้ความสำคัญกับมาตรการลดการใช้ยา เพื่อจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพ คณะรัฐมนตรีได้ให้ความเห็นชอบแผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย พ.ศ. 2560-2564 เมื่อวันที่ 17 สิงหาคม 2559 โดยมีเป้าประสงค์ที่ต้องการบรรลุภายในปี 2564 ที่สำคัญ คือ การป่วยจากเชื้อดื้อยาลดลงร้อยละ 50 การใช้ยาต้านจุลชีพสำหรับมนุษย์และสัตว์ลดลงร้อยละ 20 และ 30 ตามลำดับ ซึ่งกรมปศุสัตว์เป็นเจ้าภาพรับผิดชอบยุทธศาสตร์การป้องกันและควบคุมเชื้อดื้อยาและควบคุมกำกับดูแลการใช้ยาต้านจุลชีพอย่างเหมาะสมในภาคการเกษตรและสัตว์เลี้ยง (คณะกรรมการประสานและบูรณาการงานด้านการดื้อยาต้านจุลชีพ, 2017)

สหภาพยุโรปได้จัดทำแนวทางการใช้ยาอย่างมีวิสัยทัศน์ (Guideline for the prudent use of antimicrobial in veterinary medicine ลงประกาศใน official journal of European Union เมื่อวันที่ 11 กันยายน 2558 เป็นแนวทางในการกำหนดมาตรการควบคุมเชื้อดื้อยาของสมาชิก ซึ่งให้ความสำคัญกับการควบคุมกำจัดโรคโดยไม่ใช้ยา การให้ยาปฏิชีวนะต้องเป็นไปตามใบสั่งใช้ของสัตวแพทย์เท่านั้น (COMMISSION NOTICE 2015/C 299/04, 2015) ผลการศึกษานี้สามารถใช้แนะนำสัตวแพทย์และเกษตรกร ในการใช้ยาสมเหตุผลอย่างมีวิสัยทัศน์ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตโดยไม่ต้องใช้ยาเพื่อควบคุมโรค ซึ่งสามารถทำได้โดยใช้ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารควบคู่กับการกำหนดมาตรการควบคุม ป้องกัน

กำจัดโรคในฝูงพ่อแม่พันธ์สัตว์ปีก ทั้งนี้ผู้บริโภคสามารถลดโอกาสรับเชื้อ และเชื้อดื้อยาได้หากบริโภคผลิตภัณฑ์ที่ปรุงสุกอย่างดีจนเชื้อโรคที่อาจปนเปื้อนมาได้ถูกทำลายไป สำหรับผู้เลี้ยงและผู้เกี่ยวข้องในฟาร์มสามารถลดโอกาสในการรับและแพร่เชื้อดื้อยาได้โดยการล้างมือ เปลี่ยนเสื้อผ้าที่ทางฟาร์มจัดหาไว้ให้ และอุปกรณ์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเลี้ยงไก่ด้วยสบู่หรือน้ำยาฆ่าเชื้ออย่างถูกวิธีเพื่อลดโอกาสที่ได้รับเชื้อโรคเข้าสู่ร่างกาย โดยสัตวแพทย์และฟาร์มสามารถร่วมมือหามาตรการควบคุมโรคโดยวิธีอื่น เพื่อลดการใช้ยาต้านจุลชีพให้น้อยลง และใช้เมื่อจำเป็นตามคำแนะนำของสัตวแพทย์เท่านั้น

สรุป

การศึกษาครั้งนี้พบว่า กลุ่มที่ 1 (ยาทิลมิโคซินที่ให้ไก่กินอายุ 1 – 3 วัน และอม็อกซิซิลลินที่ให้ไก่กินอายุ 26 – 28 วัน) ยังไม่สามารถกำจัดเชื้อเอ็มจีได้ แต่อาจช่วยด้านคุณลักษณะของไก่เนื้อได้ดีที่สุด ตามมาด้วยกลุ่มที่ 3 (การให้สารสกัดกระเทียมและน้ำมันหอมระเหยที่ช่วงอายุต่างๆ) และ กลุ่มที่ 2 (สารเสริมโปรตีน) ตามลำดับ แต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อประกอบกับสถานการณ์การควบคุมเชื้อดื้อยาและความจำเป็นในการลดการใช้ยาในสัตว์ ควรส่งเสริมการใช้ผลิตภัณฑ์อื่นทดแทน เช่น สารสกัดกระเทียม ควบคู่กับน้ำมันหอมระเหย และสารเสริมโปรตีน เป็นอีกทางเลือกที่เหมาะสมกว่าของการเลี้ยงไก่เนื้อซึ่งควรลดการใช้ยาต้านจุลชีพเพื่อควบคุมโรค

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ศ.นพ. วิษณุ ธรรมลิขิตกุล ที่ให้คำแนะนำ สถาบันวิจัยระบบสาธารณสุข บริษัท ฮูเว ฟาร์มา (ประเทศไทย) จำกัด บริษัทเบทาโกร จำกัด (มหาชน) ที่สนับสนุนงบประมาณในการวิจัยและผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการศึกษานี้

เอกสารอ้างอิง

คณะกรรมการประสานและบูรณาการงานด้านการดื้อยาต้านจุลชีพ. 2017. “แผนยุทธศาสตร์การจัดการการดื้อยาต้านจุลชีพประเทศไทย พ.ศ. 2560 – 2564” [Online]. Available: http://www.fda.moph.go.th/sites/drug/SitePages/AMR.aspx

สมศักดิ์ ภัคภิญโญ จิโรจ ศศิปรียจันทร์ และนิวัตร จันทร์ศิริพรชัย 2546. วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลเชื้อตาย ตอนที่ 2: ประสิทธิภาพวัคซีนเชื้อตายที่เตรียมขึ้นในการป้องกันโรคนิวคาสเซิล. เวชชสารสัตวแพทย์. 33: 51–58.

Abu-Basha EA, Idkaidek NM and Shunnaq AF 2007.Pharmacokinetics of tilmicosin (Provitil powder and Pulmotil liquid AC) oral formulations in chickens. Vet. Res. Comm. 31: 477-485.

COMMISSION NOTICE 2015/C 299/04. Guidelines for the prudent use of antimicrobials in veterinary medicine. OJC 299, 11.9.2015, 10-18 p.

Cross DE, MCDevitt RM and Acamovic T 2011. Herbs, thyme essential oil and condensed tannin extracts as dietary supplements for broilers, and their effects on performance, digestibility, volatile fatty acids and organoleptic properties. Br Poult Sci.52: 227-237.

Final decision of the commissioner. 2005. Docket No.2000N-1571, Withdrawal of approval of the new animal drug application for enrofloxacin in poultry. Department of Health and Human Services, U.S. Food and Drug Administration. Maryland, U.S.A. 119-120 p.

Glisson, JR and Kleven, SH 1984. *Mycoplasma gallisepticum* vaccination: effects on egg transmission and egg production. Avian Dis. 28: 406 – 415.

Hsiung GD 1982. Hemagglutination and hemagglutination inhibition test. In: Diagnostic Virology. CKY Fong, ML Landry and GD Hsiung (eds.). 3rd ed. Now Haven, Yale University Press. p. 35-41.

Khattak F, Ronchi A, Castelli P and Sparks N 2014. Effects of natural blend of essential oil on growth performance, blood biochemistry, cecal morphology, and carcass quality of broiler chickens. Poult Sci. 93: 132 – 137.

Kleven SH, King DD and Anderson DP 1972. Airsacculitis in broilers from *Mycoplasma synoviae*: effect on air-sac lesions of vaccinating with infectious bronchitis and Newcastle virus. Avian Dis. 16: 915-924.

Lauerman LH 1996, Mycoplasma PCR assays. In: Nucleioaoid amplifloation assays for diagnosis of animal diseases. LH laureman(ed). American association of veterinary laboratory diagnosticians. Turkook, California p.41-44.

O'Neill J. 2016."Tackling drug – resistant infections globally: final report and recommendation." [Online]. Available: https://amrreview.org/sites/default/files/160518_Final%20paper _with%20cover.pdf. Accessed April 30, 2017.

Pakpinyo S, Rawiwet V, Buranasiri W and Jaruspibool S. 2008. The efficacy of tilmicosin against broiler chickens infected with *Mycoplasma gallisepticum* isolated in Thailand. Thai J Vet Med. 38: 17-24.

Raviv Z and Ley DH 2014. *Mycoplasma gallisepticum* infection. In: Diseases of Poultry 13th ed. DE Swayne, JR Glisson, LR McDougald, LK Nolan, DL Suarez and V. Nair (eds) Ames: IA. Wiley-Blackwell. p. 877-893.

Scorneaux B and Shryock TR 1998. Intracellular accumulation, subcellular distribution and efflux of tilmicosin in chicken phagocytes. Poult Sci. 77: 1510-1521.

Smits WH, Goren E, Litjens JB, Saes JM and Reuten FM 1976. The vaccination reaction syndrome of broilers after vaccination against Newcastle disease and infectious bronchitis [Article in Dutch] (author's transl). Tijdschr Diergeneeskd.101:649 - 657.

Stipkovits L,Csiba E, Laber G, Burch DG 1992. Simultaneous treatment of chickens with salinomycin and tiamulin in feed. Avian Dis. 36 (1) :6-11.

Vardaman TH, Reece FN and Deaton JW 1973. Effect of *Mycoplasma synoviae* on broiler performance. Poult Sci. 52: 1909 – 1912.

Warren MJ, Peters AR, Brett TR and Stocker J 1997.Lung and airsac concentrations of tilmicosin following oral administration in chicken. J. Vet.Pharmacol Therap. 20: 195-196.

WHO Advisory Group on Integrated Surveillance of Antimicrobial Resistance (AGISAR). 4th revision 2013. "Critically Important Antimicrobials for Human Medicine" [online]. Available: http://who.int/foodsafety/publications/antimicrobials-fourth/en/ Accessed April 30, 2017.

Yagihashi T and Tajima M 1986. Antibody responses in sera and respiratory secretions from chickens infected with *Mycoplasma gallisepticum*. Avian Dis. 30: 543-550.