การเปรียบเทียบการให้วัคซีนนิวคาสเซิลในไก่ไข่ที่เลี้ยงแบบปล่อยอิสระในประเทศไทย
Comparison of Newcastle Disease Vaccination in Free-Range Layer in Thailand

สุทธิทัศน์ ทองคำใส และ ดลฤทัย ศรีทะ
Suttitas Tongkamsai and Donruethai Sreta
คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก วิทยาเขตบางพระ จังหวัดชลบุรี
E-mail : Pang_pao8@hotmail.com โทร. 087-7017105

บทคัดย่อ

ไก่ไข่อายุ 18 สัปดาห์ จำนวน 40 ตัว แบ่งไก่ไข่ออกเป็น 4 กลุ่มๆ ละ 10 ตัว กลุ่ม 1 กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับวัคซีน กลุ่ม 2 ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็น สเตรนลาโซตา ให้โดยการหยอดตา กลุ่ม 3 ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อตายในสื่อน้ำมัน สเตรนอัลเตอร์ ทูซี ให้โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนัง กลุ่ม 4 ได้รับวัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อเป็นร่วมกับเชื้อตาย ทำการเก็บเลือดเพื่อตรวจหาระดับไตเตอร์ด้วยวิธีอีไลซ่าที่อายุ 24, 26, 28 32, 36, 40 และ 44 สัปดาห์ พบว่า ระดับไตเตอร์ของไก่กลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อเป็นสูงที่สุดที่ 28 สัปดาห์ (3.97 log) กลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อเป็นร่วมกับเชื้อตายสูงที่สุดที่ 32 สัปดาห์ (4.14 log) กลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายสูงที่สุดที่ 36 สัปดาห์ (4.19 log) เมื่อสิ้นสุดการทดลองระดับไตเตอร์กลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายเดี่ยวๆ สูงกว่ากลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อเป็นเดี่ยวๆหรือเชื้อเป็นร่วมกับวัคซีนเชื้อตาย
คำสำคัญ : วัคซีนนิวคาสเซิล ไก่ไข่ที่เลี้ยงแบบปล่อยอิสระ

Abstract

Forty, 18 week-old layer-type chickens were divided into 4 groups of 10 birds each. Group 1 was not vaccinated as controls. Group 2 was given a live ND vaccine, strain LaSota by eye drop. Group 3 was given an inactivated oil adjuvant ND vaccine, strain Ulster2C by subcutaneous injection. Group 4 was given a live ND vaccine, strain LaSota simultaneously with inactivated oil adjuvant ND vaccine, and strain Ulster2C. Blood samples were collected at 24, 26, 28, 32, 36, 40 and 44 weeks for ELISA test. Results revealed that ND titer of live vaccinated group was highest at 28 weeks (3.97 log), live vaccine simultaneously with inactivated oil adjuvant ND vaccine was highest at 32 weeks (4.14 log) and inactivated oil adjuvant vaccinated group was highest at 36 weeks (4.19 log). At the end of the experiment ND titer of birds vaccinated with only inactivated oil adjuvant vaccine had higher than the ones received only live vaccine or live simultaneously with inactivated vaccine.
Keywords : Newcastle Disease Vaccination, Free range layer

1. บทนำ

ในเขตชนบทไก่ไข่ที่เลี้ยงแบบปล่อยอิสระส่วนใหญ่จะถูกเลี้ยงไว้หลังบ้าน เพื่อนำไข่มาบริโภคในครัวเรือน ปัญหาในการเลี้ยงส่วนใหญ่ที่พบมาจากการตายเพราะโรคระบาด โรคนิวคาสเซิลคือหนึ่งในโรคระบาดและเป็นสาเหตุหลักของการตายในไก่ที่เลี้ยงแบบปล่อยอิสระในประเทศกำลังพัฒนาของทวีปเอเชีย โดยหากเกิดการระบาดของโรคนิวคาสเซิลจะทำให้ฝูงไก่ที่เลี้ยงหลังบ้านตาย 70-80% ถึงแม้ว่าจะมีความเชื่อว่าการเลี้ยงไก่ที่เลี้ยงในลักษณะนี้จะสามารถต้านทานต่อ

โรคได้ แต่หากไก่ได้รับเชื้อ ก็ยังคงเป็นแหล่งรังโรคและแพร่เชื้อได้ (Anath *et al.,* 2008) การป้องกันโรคนิวคาสเซิลในฝูงไก่ สามารถทำได้โดยการสุขศาสตร์ ระบบความปลอดภัยทางชีวภาพที่ดี และการทำวัคซีน การทำวัคซีนในไก่ที่เลี้ยงแบบปล่อยอิสระทำได้ยาก สิ้นเปลืองแรงงานและเวลาในการจับ รวมทั้งในประเทศไทยไม่พบการระบาดของโรคนิวคาสเซิลมานานแล้ว การทำวัคซีนจึงไม่เป็นที่นิยม นอกจากนี้เกษตรกรประสบปัญหาเรื่องราคาวัคซีนที่แพง และเมื่อทำวัคซีนไปแล้วไก่อาจจะแพ้วัคซีน แต่การเลี้ยงไก่แบบปล่อยอิสระนั้นมีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อโรคนิวคาสเซิลมาก เนื่องจากอาจได้รับเชื้อจากธรรมชาติได้ง่าย (Oakeley, 2000) โปรแกรมวัคซีนในไก่ไข่ ที่เลี้ยงเชิงอุตสาหกรรมจะให้วัคซีนเชื้อตายก่อนให้ไข่ แล้วจึงให้วัคซีนเชื้อเป็นสายพันธุ์อ่อนซ้ำหลายๆครั้ง แต่ในการเลี้ยงแบบปล่อยอิสระ เกษตรกรมักจะไม่ทำวัคซีนหลังจากไก่เริ่มให้ไข่แล้ว (Alexander, 1995) ซึ่งระดับภูมิคุ้มกันจะค่อยๆ ลดลงจนไม่สามารถป้องกันโรคได้ การตรวจติดตามระดับภูมิคุ้มกันของโรคนิวคาสเซิลในอดีตมักจะใช้วิธี HI แต่ปัจจุบันนิยมใช้วิธี ELISA เนื่องจากให้ผลที่สอดคล้องกัน (Kapczynski and King, 2005) การทดลองนี้จะทำให้ทราบระดับไตเตอร์ของโรคนิวคาสเซิลหลังจากทำวัคซีนแบบต่างๆ หนึ่งครั้งหลังจากเริ่มให้ไข่

2. วิธีการทดลอง

2.1 สัตว์ทดลอง

ไก่ไข่พันธุ์แบ๊บคอค อายุ 18 สัปดาห์ จำนวน 40 ตัว น้ำหนักไก่เมื่อเริ่มทดลองเฉลี่ย 1.5 กิโลกรัม เลี้ยงแบบปล่อยอิสระในบริเวณเดียวกัน มีอาหารสำเร็จรูปมีพลังงานประโยชน์ 331.24 กิโลแคลลอรี่ต่อ 100 กรัมอาหาร ให้ไก่กินอาหารประมาณ 110 กรัมต่อตัวต่อวัน ให้น้ำกินตลอดวัน ได้รับแสงสว่างตามธรรมชาติ ไก่ทุกตัวได้รับการกระตุ้นวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลเชื้อตายครั้งสุดท้ายที่อายุ 16 สัปดาห์ มีการทำสัญลักษณ์เป็นสายรัดสีไว้ที่ขา แล้วแบ่งกลุ่มเข้าสู่การทดลองโดยวิธีการสุ่มดังนี้

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม ไม่มีการทำวัคซีนนิวคาสเซิล และหยอดตาด้วยน้ำกลั่น 30 ไมโครลิตรต่อตัว

กลุ่มที่ 2 ทำวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลเชื้อเป็น สเตรนลาโซตา ของบริษัท โดยการหยอดตา 30 ไมโครลิตร ที่อายุ 24 สัปดาห์

กลุ่มที่ 3 ทำวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลเชื้อตาย สเตรน อัลเตอร์ทูซี ของบริษัท โดยการฉีดเข้าใต้ผิวหนังบริเวณคอตัวละ 0.3 มิลลิลิตร ที่อายุ 24 สัปดาห์

กลุ่มที่ 4 ทำวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลเชื้อเป็นสเตรน ลาโซตา พร้อมกับเชื้อตายสเตรน อัลเตอร์ทูซี ของบริษัทที่อายุ 24 สัปดาห์ โดยวัคซีนทั้งหมดถูกเตรียมตามผู้ผลิตและให้ภายใน 1 ชั่วโมงหลังจากเตรียม

2.2 การเก็บตัวอย่าง

การเจาะเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดจากไก่ทดลองทุกกลุ่มกลุ่มละ 3 ตัวที่ทำสัญลักษณ์ โดยเก็บที่อายุ 18, 24, 26, 28, 32, 36, 40 และ 44 สัปดาห์ โดยใช้เข็มเบอร์ 21 เจาะที่เส้นเลือดบริเวณปีก (Wing vein) ประมาณ 1.5 มิลลิลิตร เพื่อนำมาหาค่าภูมิคุ้มกันต่อโรคนิวคาสเซิลต่อไป

การตรวจระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคนิวคาสเซิลโดยวิธี ELISA

นำหลอดบรรจุเลือดมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาทีนาน 15 นาทีที่อุณหภูมิห้อง และดูดเก็บซีรั่มใส่หลอดเอฟเพนดอฟ เก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอตรวจพร้อมกับตัวอย่างอื่นโดยใช้เครื่อง ELISA reader ยี่ห้อ Tecan และใช้ ELISA kit ของบริษัท Biocheck การเตรียมสารละลายละลายสำเร็จรูปคือ Diluent Conjugate และ Stop solution ในขณะที่ Substrate เตรียมโดยละลายเม็ดใน Reagent และ Wash solution เตรียม

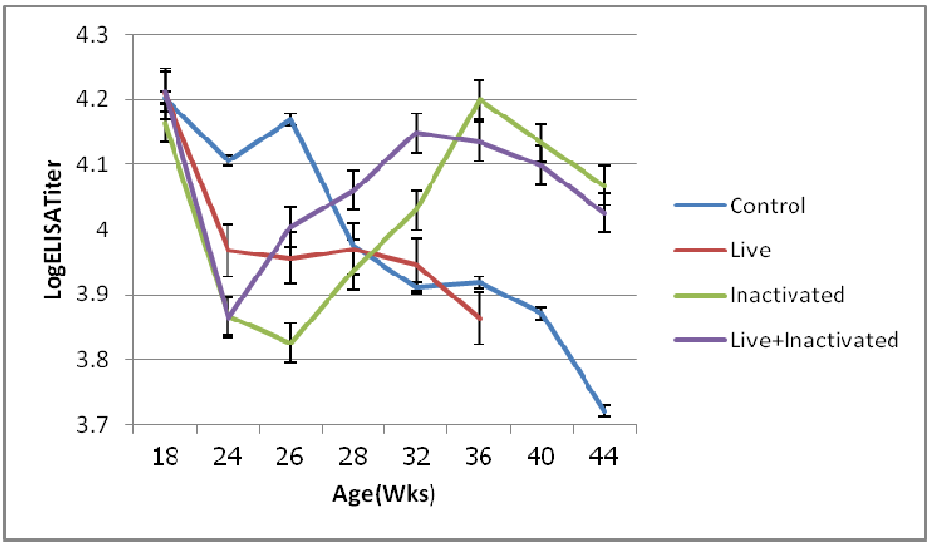
โดยละลายผงในน้ำกลั่น การเตรียม Serum dilution plate ใส่ซีรั่ม 5 ไมโครลิตร และ Diluent 245 ไมโครลิตร ตั้งแต่หลุม G1 จนถึง H12 ในเพลทเปล่า ใส่ Negative control, Positive control และ Reference control 10 ไมโครลิตร ลงในหลุม A1 ถึง F1 ตามลำดับ ในเพลททดสอบ ดูดสารจากเพลทเปล่า 10 ไมโครลิตร ลงในหลุ่มที่ตำแหน่งเดียวกันในเพลททดสอบ และเติม Diluent ลงไปอีก 90 ไมโครลิตร วางทิ้งไว้ 30 นาที ล้างออกด้วย wash solution 350 ไมโครลิตร 4 รอบ เติม Conjugate 100 ไมโครลิตร ทุกหลุม วางทิ้งไว้ 30 นาที ล้างออกด้วย wash solution 350 ไมโครลิตร 4 รอบ เติม Substrate 100 ไมโครลิตร ทุกหลุมวางทิ้งไว้ 15 นาที เติม Stop solution 100 ไมโครลิตร แล้วนำไปอ่านค่าด้วย ELISA reader ที่ 405 นาโนเมตร คำนวนค่าจากการดูดกลืนคลื่นแสง (Optical density) แล้วแปลผลเป็นไตเตอร์ด้วยโปรแกรม Biochek Software

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ด้วย One way ANOVA ชนิด repeated measures ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม GraphPad Prism 5

3. ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

ไก่ทุกตัวมีระดับไตเตอร์สูงเมื่อเริ่มเลี้ยงที่สัปดาห์ที่ 18 แต่มีแนวโน้มลดลงจนถึงสัปดาห์ที่ 24 ซึ่งเป็นสัปดาห์ที่มีการให้วัคซีน หลังจากให้วัคซีน ระดับไตเตอร์ในสัปดาห์ที่ 26, 32 และ 40 พบว่ากลุ่มควบคุมมีแนวโน้มของค่าเฉลี่ยลอการีทึมของไตเตอร์ลดลงอยู่ที่ 4.16835, 3.91046 และ 3.8715 ตามลำดับ (ภาพที่ 1) กลุ่มที่ให้วัคซีนเชื้อเป็นมีแนวโน้มค่าเฉลี่ยลอการิทึมของไตเตอร์อยู่ที่ 3.95596 และ 3.94648 สอดคล้องกับ การทดลองของ Wambura *et al.* (2000) ที่ให้วัคซีนเชื้อเป็นละลายน้ำดื่มแก่ไก่ที่เลี้ยงแบบปล่อยอิสระในประเทศแทนซาเนีย แล้วตรวจพบค่าเฉลี่ยไตเตอร์ Log HI เพิ่มขึ้นจาก 3.4 เป็น 5.4 หลังจากให้วัคซีนไปแล้ว 30 วัน และระดับไตเตอร์กลับลงลงมาเหลือ 3.4 หลังจากให้วัคซีนไปแล้ว 60 วัน กลุ่มที่ให้วัคซีนเชื้อตายมีค่าเฉลี่ยลอการิทึมของไตเตอร์อยู่ที่ 3.825751, 4.029318 และ 4.132676 ตามลำดับ สอดคล้องกับการทดลองของ Rahman *et al.* (2002) ที่การทดลองให้วัคซีนนิวคาสเซิลเชื้อตายกับไก่ที่อายุ 120 วัน ซึ่งในช่วงที่มีระดับ HI ไตเตอร์กำลังลดลงจาก 76.34 เป็น 26.28 หลังจากทำวัคซีนไปแล้ว 30 วัน พบการเพิ่มขึ้นของระดับ HI ไตเตอร์สูงถึง 371.80 ระดับไตเตอร์ต่อโรคนิวคาสเซิลจากการได้รับวัคซีนเชื้อเป็น หรือวัคซีนเชื้อตายต่างก็สามารถป้องกันโรคได้ แต่วัคซีนเชื้อตายให้ภูมิคุ้มกันที่นานกว่า มีการแนะนำให้ทำวัคซีนเชื้อเป็นร่วมกับเชื้อตาย อาจจะให้ระดับไตเตอร์สูงกว่า ซึ่งพบว่ากลุ่มที่ให้วัคซีนเชื้อเป็นร่วมกับเชื้อตายมีค่าเฉลี่ยลอการีทึมของไตเตอร์อยู่ที่ 4.004222, 4.148594 และ 4.098089 ตามลำดับ โดยการตอบสนองของระดับไตเตอร์ที่สูงในช่วงต้นนั้นเกิดจากการให้วัคซีนเชื้อเป็นไวรัสมีการเพิ่มจำนวนที่เยื่อบุตาขาว ต่อมาการเพิ่มขึ้นของระดับไตเตอร์ในช่วงถัดมาเกิดจากวัคซีนเชื้อตายค่อยๆ ปล่อยแอนติเจนออกมา โดยสื่อน้ำมัน จะทำให้ไก่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันได้อย่างต่อเนื่อง (สมศักดิ์ และคณะ, 2546) กลุ่มทดลองทั้ง 3 กลุ่มมีระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคนิวคาสเซิลสูงกว่ากลุ่มควบคุม เนื่องจากการกระตุ้นวัคซีนนั้น ไก่จะสามารถตอบสนองต่อเชื้อได้เร็วขึ้นเนื่องจากมีเซลล์จดจำทำให้เกิดการตอบสนองครั้งที่สอง



ภาพที่ 1 ค่าเฉลี่ยลอการีทึมและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของไตเตอร์ของโรคนิวคาสเซิล ของไก่ที่เลี้ยงแบบปล่อยอิสระ กลุ่มทดลองและกลุ่มควบคุม ช่วงสัปดาห์ที่ 18, 24, 26, 28, 32, 36, 40 และ 44

ในสัปดาห์ที่ 26 (หลังทำวัคซีน 2 สัปดาห์) พบค่าไตเตอร์ของไก่สูงขึ้นทุกกลุ่มยกเว้นกลุ่มที่ให้วัคซีนเชื้อตาย เนื่องจากแอนติเจนในวัคซีนถูกทำให้หมดฤทธิ์จึงกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ช้ากว่า และกลุ่มที่ให้วัคซีนเชื้อเป็น เนื่องจากการเลี้ยงแบบปล่อยอิสระนี้ อาจมีปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมบางอย่างที่รบกวนการสร้างภูมิคุ้มกัน โดยกลุ่มที่ให้วัคซีนเชื้อเป็นร่วมกับตายมีระดับลอการิทึมของไตเตอร์สูงสุด คือ 4.004222 ในสัปดาห์ที่ 36 (หลังทำวัคซีน 8 สัปดาห์) พบค่าไตเตอร์ของไก่สูงขึ้นทุกกลุ่มยกเว้นกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ทำวัคซีนเชื้อเป็นอย่างเดียวจะมีระดับไตเตอร์สูงกว่ากลุ่มที่ทำวัคซีนเชื้อตายอย่างเดียว เนื่องจากเชื้อสามารถเพิ่มจำนวนในเซลล์ได้อย่างรวดเร็วจึงกระตุ้นทั้งภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์ (CMI) และระบบภูมิคุ้มกันแบบสารน้ำ (HMI) หลังจากนั้นเมื่อมีการสร้างแอนติบอดีไปนิวทราไลซ์ จึงเกิดการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเชื้อจึงทำให้ระดับไตเตอร์ลดลง โดยไก่ที่เลี้ยงแบบปล่อยอิสระที่มีระดับไตเตอร์สูงกว่าจะมีโอกาสรอดชีวิตสูงกว่าไก่ที่มีไตเตอร์ต่ำ (Thekisoe *et al.,* 2004) ในสัปดาห์ที่ 32 (หลังทำวัคซีน 8 สัปดาห์) พบค่าไตเตอร์ของไก่ยังคงสูงขึ้นในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายและกลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อเป็นร่วมกับเชื้อตาย สอดคล้องกับรายงานของ วีรภัสรา และคณะ (2548) ที่พบการเพิ่มขึ้นของระดับไตเตอร์หลังจากทำวัคซีน 2-4 สัปดาห์ โดยระดับไตเตอร์ต่อโรคนิวคาสเซิลจะสูงสุดหลังจากทำวัคซีน 9 สัปดาห์ และอาจจะให้ความคุ้มโรคจนถึง 11 สัปดาห์ได้ (อิทธิพล และคณะ, 2537)

4. สรุป

การกระตุ้นวัคซีนนิวคาสเซิลในไก่ไข่ที่เลี้ยงแบบปล่อยอิสระที่อายุ 24 สัปดาห์ซึ่งมีระดับไตเตอร์จากวัคซีนครั้งก่อนค่อนข้างสูง โดยใช้เชื้อเป็นจะกระตุ้นให้เกิดไตเตอร์ได้สูงกว่าเชื้อตาย แต่ระดับไตเตอร์จะสูงที่สุดเมื่อไก่ได้รับวัคซีนเชื้อตาย ซึ่งน่าจะเป็นทางเลือกสำหรับเกษตรกรต่อไป โปรแกรมการให้วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลควรทำควบคู่กับการตรวจติดตามระดับภูมิคุ้มกันที่ตอบสนอง

5. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ นางสาวพรพิมล สิทธิเวช ที่ให้ความเอื้อเฟื้อ ในการตรวจระดับภูมิคุ้มกันโรคนิวคาสเซิลด้วยวิธีอิไลซ่า และขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ที่ให้เงินทุนอุดหนุนการวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง

วีรภัสรา แก้วเกษ สโรสินี เพ็ญพร รุ่งโรจ ศรีสมยง นิวัตร จันทร์ศิริพรชัย และจิโรจ ศศิปรียจันทร์. 2548. **ประสิทธิภาพของวัคซีนนิวคาสเซิลชนิดเชื้อตายที่ผลิตเชิงการค้าในไก่ไข่.** เวชสารสัตวแพทย์ ปีที่ 35 ฉบับที่ 3: 31-37

สมศักดิ์ ภัคภิญโญ จิโรจ ศศิปรียจันทร์ และนิวัตร จันทร์ศิริพรชัย. 2546. **วัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลเชื้อตาย.** เวชสารสัตวแพทย์. ปีที่ 33 ฉบับที่ 1: 51-58

อิทธิพล บุญจันทร์ วีรพล ทวีนันท์ ธนาคาร นะศรี จิโรจ ศศิปรียจันทร์ และสมศักดิ์ ภัคภิญโญ. 2537. **ประสิทธิภาพของวัคซีนป้องกันโรคนิวคาสเซิลในไก่กระทง.** สัตวแพทยสารปีที่ 15 ฉบับที่ 3: 19-26

Alexander D.J. 1995. **Epidemiology and control of avian influenza and Newcastle disease.** Journal of Comparative Pathology. 112: 105 126

Ananth R., Kirubaharan J.J., Priyadarshini M.L.M. and Albert A. 2008. **Isolation of Newcastle disease viruses of high virulence in unvaccinated healthy village chicken in South India.** International Journal of Poultry Science 7(4): 368-373.

Kapczynski D.R., King D.J. 2005. **Protection of chickens against overt clinical disease and determination of viral shedding following vaccination with commercially available Newcastle disease virus vaccines upon challenge with highly virulent virus from the California 2002 exotic Newcastle disease outbreak.** Vaccine 23: 3424–3433

Oakeley R.D. 2000. **The limitations of a feed/water based heat-stable vaccine delivery system for Newcastle disease-control strategies for backyard poultry flocks in sub-Saharan Africa.** Preventive Veterinary Medicine 47: 271-279

Rahman M.M., Bari S.M., Glasuddin M., Islam M.R., Alam J., and Sil G.C. 2002. **Evaluation of maternal and humoral immunity against Newcastle disease virus in chicken.** International Journal of Poultry Science 1(5): 161-163

Thekisoe M.M.O., Mbati P.A., and Bisschop S.P.R. 2004. **Different approaches to the vaccination of free ranging village chickens against Newcastle disease in Qwa-Qwa, South Africa.** Veterinary Microbiology 101: 23–30

Wambura P.N., Kapaga A.M., and Hyera J.M.K. 2000. **Experimental trials with a thermostable Newcastle disease virus (strain I2) in commercial and village chickens in Tanzania.** Preventive Veterinary Medicine 43: 75-83