

9-1-2005

## THE VIRULENCE OF MYCOPLASMA GALLISEPTICUM INFECTIONS USING THAI ISOLATES IN BROILER CHICKENS

Somsak Pakpinyo

Follow this and additional works at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm>



Part of the [Veterinary Medicine Commons](#)

---

### Recommended Citation

Pakpinyo, Somsak (2005) "THE VIRULENCE OF MYCOPLASMA GALLISEPTICUM INFECTIONS USING THAI ISOLATES IN BROILER CHICKENS," *The Thai Journal of Veterinary Medicine*: Vol. 35: Iss. 3, Article 2. Available at: <https://digital.car.chula.ac.th/tjvm/vol35/iss3/2>

This Article is brought to you for free and open access by the Chulalongkorn Journal Online (CUJO) at Chula Digital Collections. It has been accepted for inclusion in The Thai Journal of Veterinary Medicine by an authorized editor of Chula Digital Collections. For more information, please contact [ChulaDC@car.chula.ac.th](mailto:ChulaDC@car.chula.ac.th).

ความรุนแรงของการติดเชื้อ มัยโคพลาสมา กัลลิวเซปติกัม  
สายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทย ในไก่กระตัง

สมศักดิ์ ภัคภิณโญ\*

Abstract

Somsak Pakpinyo\*

**THE VIRULENCE OF *MYCOPLASMA GALLISEPTICUM* INFECTIONS  
USING THAI ISOLATES IN BROILER CHICKENS**

Ninety 1-day-old-female broiler chickens were divided into groups as follows. Thirty birds were randomly selected to be bled from jugular vein for MG antibody assay and swabbed at choanal cleft for MG DNA using PCR. The remaining birds were divided into 3 groups, 2 replicates in each group and 10 birds in each replicate. Group 1 was a sham negative control. Group 2, 3 received MG Thai isolates and MG S6 strains, respectively. All birds were injected into the left thoracic airsac, with 0.1 ml of broth or MG cultured broth ( $10^6$  CFU). Each group was raised in a wire cage in separate isolation rooms. Clinical signs, death, feed conversion rates, and profits (Baht) were observed during 1 - 21 days. Dead birds were necropsied and swabbed from the left thoracic airsac for MG DNA by PCR and *E. coli* culture. At 21 days, all living birds were necropsied to determine the gross airsac and microscopical, tracheal lesion scores and simultaneously swabbed from the left thoracic airsac for MG DNA by PCR and *E. coli* culture. The results revealed that the number of birds that showed clinical signs, the number of that died, and the profits were significantly worse in group 2 than those in groups 1 and 3 ( $p < 0.05$ ) and the mean microscopic tracheal lesion score was significantly worse in group 2 than that of group 3 ( $p < 0.05$ ). The mean gross airsac lesion scores of groups 2 and 3 were significantly higher than those of group 1 ( $p < 0.05$ ). MG PCR was only found in post infection in groups 2 and 3. No growth of *E. coli* was found in any groups.

---

**Keywords :** *Mycoplasma gallisepticum*, broiler chickens, Thailand

---

\*Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330

\*Corresponding author

\*ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

\*ผู้รับผิดชอบบทความ

## บทคัดย่อ

สมศักดิ์ ภัคภิญโญ\*

### ความรุนแรงของการติดเชื้อ *มายโคพลาสมา กัลลิเซพติกั่ม* สายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทย ในไก่กระทง

ทำการเลี้ยงไก่กระทงเพศเมียอายุ 1 วัน จำนวน 90 ตัว สุ่มไก่จำนวน 30 ตัวเจาะเลือดที่เส้นเลือดดำที่คอเพื่อตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเอ็มจีและป้ายเชื้อจากร่องเพดานปากเพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจี แบ่งไก่ที่เหลือออกเป็น 3 กลุ่ม แต่ละกลุ่มมี 2 ซ้ำ ๆ ละ 10 ตัว กลุ่มที่ 1 2 และ 3 เป็นกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ได้รับเชื้อเอ็มจีสายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทยและ S6 ตามลำดับ ด้วยการฉีดเชื้อเอ็มจีสู่จุดลมด้านซ้ายตัวละ 0.1 มล. ( $10^6$  CFU) เลี้ยงไก่แต่ละกลุ่มในห้องควบคุมการติดเชื้อแต่ละห้องตลอดช่วงอายุ 1-21 วัน ทำการบันทึกอาการป่วยและตาย อัตราการแลกเนื้อ ผลตอบแทนที่ได้รับ (บาท) ไก่ที่ตายนำมาผ่าซากและป้ายเชื้อจากจุดลมข้างซ้ายเพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีและเพาะเชื้อหา *อี. โคลีย์* ที่ไก่อายุ 21 วัน ไก่ทุกตัวถูกนำมาผ่าซากเพื่อประเมินคะแนนรอยโรคของจุดลมช่องอกทางมหาวิทยาลัยวิทยาและท่อลมทางจุลพยาธิวิทยา ป้ายเชื้อจากจุดลมข้างซ้ายเพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีและเพาะเชื้อหา *อี. โคลีย์* ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มที่ 2 พบจำนวนไก่ป่วยและไก่ตายมากกว่าผลตอบแทนที่ได้รับต่ำกว่า และค่าเฉลี่ยคะแนนรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของท่อลมสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) และค่าเฉลี่ยคะแนนรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของท่อลมสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ค่าเฉลี่ยคะแนนรอยโรคทางมหาวิทยาลัยวิทยาของจุดลมของกลุ่มที่ 2 และ 3 สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 พบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีเฉพาะไก่กลุ่มที่ 2 และ 3 ที่ได้รับเชื้อเอ็มจีและไม่พบการเจริญของเชื้อ *อี. โคลีย์* ในไก่ทุกกลุ่ม

คำสำคัญ: *มายโคพลาสมา กัลลิเซพติกั่ม* ไก่กระทง ประเทศไทย

### บทนำ

โรคติดเชื้อ *มายโคพลาสมา กัลลิเซพติกั่ม* หรือ เอ็มจี (*Mycoplasma gallisepticum* หรือ MG) เป็นโรคติดเชื้อของระบบทางเดินหายใจของสัตว์ปีกซึ่งมักพบแบบเรื้อรัง รอยโรคที่พบได้บ่อย คือ จุดลมอักเสบ เรียกว่า Chronic respiratory disease (CRD) (Ley, 2003) สัตว์ปีกที่สามารถพบโรคนี้ได้คือ ไก่ ไก่วง นกกระทา นกแก้ว นกยูง ไก่ฟ้า นกพิราบ ไก่ต็อก (จิโรจ, 1989) อัตราการติดโรคสูง แต่อัตราการตายต่ำ หากมีโรคแทรกซ้อนอาจตายมากถึง 30% สำหรับไก่ไข่พบปัญหาไข่ลดและไข่ฟองเล็ก การติดต่อของโรคเกิดได้ 2 ทาง คือ แพร่เชื้อจากไก่ป่วยไปยังไก่ตัวอื่น (horizontal transmission) และแพร่เชื้อผ่านไข่ (vertical transmission) ทำให้ลูกไก่แรกเกิดได้รับเชื้อเอ็มจี ไม่แข็งแรง และมีเปอร์เซ็นต์ตายสูง อาการป่วยที่พบคือ จาม ไอ ตาและเยื่อตาขาวอักเสบ น้ำมูก (Ley, 2003) จากการทดลองพบว่าระยะฟักตัว

ของโรค 6-21 วัน (Bradbury et al., 1994; Bradbury and Levisohn, 1996)

ปัญหาการติดเชื้อเอ็มจีในไก่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ (จิโรจ, 1999) ทำให้ไก่กระทง มีคุณภาพซากด้อยลง อัตราแลกเนื้อเลวลง และเกิดผลเสียต่อการให้วัคซีนป้องกันโรคทางเดินหายใจของไก่ สำหรับไก่ไข่และไก่พันธุ์ที่ติดเชื้อเอ็มจีจะพบว่าปริมาณไข่ลดลงถึง 21 ฟอง/ตัว จากการประเมินความเสียหายจากการที่ไข่ลดของรัฐแคลิฟอร์เนียเนื่องจากการติดเชื้อ *มายโคพลาสมา* เป็นจำนวนเงินถึง 4,000 ล้านบาท (Mohammed et al., 1987) นอกจากนี้ยังมีผลเสียต่ออัตราการผสมติด จำนวนไข่ลมมากขึ้น และปัญหาการติดเชื้อผ่านไข่ มีผลให้ร้อยละการฟักเป็นตัวลดลง ลูกไก่ฟักออกมาไม่แข็งแรง มีอัตราการตายสูง และที่สำคัญลูกไก่ที่มีเชื้อเอ็มจี อาจไม่แสดงอาการป่วยใดๆ แต่จะแสดงอาการเมื่อไก่เกิดความเครียด เช่น การเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม

การให้วัคซีน รวมถึงต้องสูญเสียเงินเป็นค่ายาในการควบคุม และรักษาโรค จากสาเหตุดังกล่าวทำให้ประเทศสหรัฐอเมริกา นำโรคติดเชื้อเอมจีเข้าสู่ National Poultry Improvement Program (NPIP) เพื่อเฝ้าระวังฟาร์มพ่อแม่พันธุ์ เพื่อมิให้เกิด การติดเชื้อมายังโคฟลาสมาในลูกไก่แรกเกิดซึ่งจะเป็นผลเสีย ต่อฟาร์มที่นำลูกไก่ชุดนี้ไปเลี้ยง รวมถึงปัญหาด้านผลผลิต จำนวนไข่ และเปอร์เซ็นต์การฟักจากฟาร์มพ่อแม่พันธุ์โดยตรง

การวินิจฉัยโรคติดเชื้อเอมจีทำได้หลายวิธี คือ สังเกต จากอาการ รอยโรค การตรวจทางจุลพยาธิวิทยา การตรวจ ทางซีรัมวิทยาและการแยกเชื้อ สำหรับการตรวจทางซีรัมวิทยานั้นเป็นการตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธีต่างๆ คือ rapid plate test (RPT) หรือ tube agglutination test, hemagglutination inhibition (HI) test และ enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) สำหรับวิธี RPT และ ELISA เป็นวิธีที่มีความไว (sensitivity) สูงแต่มีความจำเพาะ (specificity) ต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธี HI แต่วิธี HI จะพบการตอบสนองของ แอนติบอดีหลังจากที่ไก่ได้รับเชื้อไปแล้ว 2-3 สัปดาห์ (Simon, 1997) ส่วนการแยกเชื้อนั้นเป็นการตรวจหาเชื้อด้วย วิธีเพาะเลี้ยงเชื้อ หรือ การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อ เอ็มจี ด้วยวิธี polymerase chain reactions (PCR) สำหรับวิธี การตรวจหาสารพันธุกรรมด้วยวิธีพีซีอาร์เป็นวิธีที่มีความ ไวและความจำเพาะสูง เป็นวิธีที่ตรวจวินิจฉัยได้อย่างรวดเร็ว (Jordan and Pattison, 1996; Kempf et al., 1993)

ในประเทศไทยผู้วิจัยสามารถแยกเชื้อเอมจีได้จากฝูงไก่ ที่มีปัญหาาระบบทางเดินหายใจ ด้วยวิธีอิมมิวโนฟลูออเรสเซนซ์ (immunofluorescent test) (สมศักดิ์ และคณะ, 2004) และ พิสูจน์ด้วยวิธีพีซีอาร์ แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงความรุนแรงของ การติดเชื้อเอมจีสายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทยว่ามีความ รุนแรง สามารถก่อโรคและเกิดพยาธิสภาพ อาการป่วยและตาย อัตราการแลกเนื้อ ผลตอบแทนที่ได้รับและค่าเฉลี่ยคะแนน รอยโรคทางมหาวิทยาลัยของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยของ ทอลมในไก่กระทองอย่างไร เพื่อเป็นประโยชน์ในการจัดการ การควบคุม และลดความสูญเสียของโรคติดเชื้อเอมจีในฟาร์ม ไก่ของประเทศไทย ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษารุ่นนี้ เพื่อที่จะศึกษาถึงความรุนแรงของการติดเชื้อเอมจีสายพันธุ์ที่ แยกได้ในประเทศไทยว่ามีความรุนแรง สามารถก่อโรคและ เกิดพยาธิสภาพต่อไก่กระทองอย่างไร

## วัสดุและวิธีการ

ไก่กระทองเพศเมียอายุ 1 วัน จำนวน 90 ตัวจากฟาร์ม ที่ปลอดเชื้อเอมจี โดยที่แม่พันธุ์มีการทำวัคซีนป้องกันโรค เอ็มจีเชื้อตาย 2 ครั้ง ที่อายุ 8 และ 14 สัปดาห์ ทำการสุ่มไก่ จำนวน 30 ตัวนำมาเจาะเลือดที่เส้นเลือดดำที่คอเพื่อ ตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเอมจีด้วยวิธี RPT และ ELISA และทำการป้ายเชื้อด้วยก้านสำลี ที่ร่องเพดานปากด้านบน (choanal cleft) เพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อเอมจีด้วย วิธี PCR โดยทำการรวมตัวอย่างจากการป้ายเชื้อไก่ 3 ตัว เป็น 1 ตัวอย่าง ไก่ที่เหลือจำนวน 60 ตัว นำมาซึ่งน้ำหนัก เฉลี่ยจากนั้นทำการแบ่งไก่ออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 2 ซ้ำ (replicate) ซ้ำละ 10 ตัว ไก่แต่ละกลุ่มจะถูกนำมาเลี้ยง บนกรงยกพื้นในห้องควบคุมอุณหภูมิและควบคุมการติด เชื้อโรคแต่ละห้อง (separate isolation room) และดำเนินการ ทดลองต่อไปนี้

กลุ่มที่ 1: ควบคุม (ไม่ได้รับเชื้อแต่ได้รับอาหาร เลี้ยงเชื้อเหลวแทน) ด้วยการฉีดเข้าดูลงลม ช่องอกด้านซ้าย (ตำแหน่งที่ฉีดบริเวณเหนือด้านบนของปีกประมาณ 1.5 ซม. และอยู่ในแนวเดียวกันระหว่างปีกและกระดูกเชิงกราน) ตัวละ 0.1 มล.

กลุ่มที่ 2: ได้รับเชื้อเอมจีสายพันธุ์ที่แยกได้จาก ฟาร์มไก่ในประเทศไทย ด้วยการฉีดเข้าดูลงลมช่องอกด้านซ้าย ตัวละ 0.1 มล. ซึ่งมีเชื้อเอมจีประมาณ  $10^6$  colony forming unit (CFU)

กลุ่มที่ 3: ได้รับเชื้อเอมจีสายพันธุ์ S6 (ATCC 15302) ด้วยการฉีดเข้าดูลงลมช่องอกด้านซ้าย ตัวละ 0.1 มล. ซึ่งมีเชื้อ เอ็มจีประมาณ  $10^6$  colony forming unit (CFU)

ทำการเลี้ยงไก่จนกระทั่งอายุ 21 วัน (สิ้นสุดการทดลอง) โดยในแต่ละซ้ำทำการบันทึกปริมาณอาหารที่ไก่กิน การป่วย การตาย ไก่ที่ตายจะถูกนำมาผ่าซากและป้ายเชื้อที่ดูลงลมด้าน ซ้ายทุกตัวเพื่อส่งตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อเอมจี และ เพื่อเพาะเชื้อ *อี. โคลีย์* สำหรับการส่งตรวจเพื่อเพาะเชื้อ *อี. โคลีย์* นั้นจะทำการรวมตัวอย่างที่ป้ายเชื้อแล้วจากไก่จำนวน 3 ตัวเป็น 1 ตัวอย่าง ซึ่งน้ำหนักตัวไก่ทุกตัวที่เหลือ เพื่อนำมาคำนวณ อัตราการแลกเนื้อ (feed conversion rate; FCR) ทำการ เจาะเลือดเพื่อตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อเอมจีด้วยวิธี RPT และ ELISA และผ่าซากไก่ทุกตัวที่เหลือพร้อมทั้งระบุ หมายเลขของตัวไก่ จากนั้นทำการประเมินรอยโรคของดูลงลม ช่องอกด้วยวิธีที่ผู้ประเมินรอยโรคไม่ทราบกลุ่ม (blind investigation) พร้อมทั้งทำการสุ่มป้ายเชื้อไก่ซ้ำละ 5 ตัว

ด้วยก้านสำลีที่ถูกลมช่องอกด้านซ้าย จากนั้นทำการรวมตัวอย่างสำลีที่ป้ายเชื้อแล้วเฉลี่ยให้เหลือกลุ่มละ 5 ตัวอย่าง เพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีด้วยวิธี PCR และเพื่อตรวจหาเชื้อ *อี. โคลิ* ทำการเก็บท่อลม (trachea) แต่ละตัว จำนวนข้างละ 5 ตัว ยกเว้นข้างที่มีไก่ตายและเหลือน้อยกว่า 5 ตัวก็ทำการเก็บตัวอย่างท่อลมทั้งหมดเพื่อส่งตรวจทางจุลพยาธิวิทยา

#### การตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธี RPT

นำเลือดไก่มาแยกซีรัม โดยซีรัมที่แยกได้จะถูกแบ่งเป็นสองส่วน ส่วนหนึ่งนำไปตรวจด้วยวิธีอาร์พีทีทันที อีกส่วนหนึ่งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $-20^{\circ}\text{C}$  เพื่อนำไปตรวจด้วยวิธีอีไลซ่า โดยหยดซีรัมปริมาตร 30 ไมโครลิตร บนแผ่นกระจกใส พร้อมทั้งหยดเอ็มจีแอนติเจน (antigen) (Intervet International, B.V., Boxmeer, Holland) ปริมาตร 30 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 1-2 นาที จึงอ่านผล โดยทุกครั้งที่มีการทดสอบจะใช้ซีรัม positive และ negative control ต่อเชื้อเอ็มจีเป็นตัวเปรียบเทียบผล โดยผลบวกจะเกิดการจับกลุ่ม (agglutination) ระหว่างแอนติบอดีและแอนติเจนแสดงว่าซีรัมจากไก่ที่นำมาทดสอบมีแอนติบอดีต่อเชื้อเอ็มจี ส่วนผลลบจะไม่เกิดจับกลุ่มระหว่างแอนติบอดีและแอนติเจน

#### การตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธีอีไลซ่า

ใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูปของ ProFLOK MG ของ Symbiotic Corporation, San Diego, CA. นำซีรัมที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ  $-20^{\circ}\text{C}$ . มาละลายที่อุณหภูมิห้องจากนั้นดำเนินการตามวิธีการของชุดทดสอบ โดยมีวิธีการอย่างย่อ คือ ทำการเจือจางซีรัม จากนั้นนำไปใส่เพลท (plate) ชุดทดสอบที่มีการเคลือบด้วยเอ็มจีแอนติเจน จากนั้นจึงเติมคอนจูเกต (goat anti-chicken IgG (H+L) peroxidase conjugate) ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที เติมซับสเตรต (substrate) ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที จึงเติมสารหยุดปฏิกิริยา (stop solution) แล้วนำเพลทไปอ่านที่เครื่องอ่านที่ความยาวคลื่นแสง 405-410 นาโนเมตร ทุกขั้นตอนดำเนินการที่อุณหภูมิห้อง การแปลผลระดับแอนติบอดีที่ให้ผลบวกต่อเชื้อเอ็มจีต้องเท่ากับหรือสูงกว่า 744 ถ้าระดับแอนติบอดีอยู่ระหว่าง 149-743 จะถือว่าเป็นการสงสัย และถ้าระดับแอนติบอดีต่ำกว่า 149 ถือว่าให้ผลลบต่อเชื้อเอ็มจี

#### การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีด้วยวิธีพีซีอาร์

ก้านสำลีที่ป้ายเชื้อแล้วจะถูกนำมาจุ่มในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (Frey's broth) นำมาสกัดหาสารพันธุกรรมตามวิธีของ Lauerman (1998) ซึ่งมีวิธีการอย่างย่อ ๆ คือ นำมาต้มที่  $100^{\circ}\text{C}$ . เวลา 10 นาที หลังจากนั้นเก็บที่  $-20^{\circ}\text{C}$ . เวลา 10 นาที และนำมาปั่นด้วยความเร็วรอบ  $15,000 \times \text{g}$  เวลา 5 นาที เก็บรักษาที่  $-20^{\circ}\text{C}$ . จนกว่าจะนำมาใช้ ส่วนขั้นตอนการเตรียมผสม PCR ซึ่งมีปริมาตรทั้งหมด 50  $\mu\text{l}$  ประกอบด้วย KCl 500 mM, Tris-HCl (pH 8.3) 100 mM,  $\text{MgCl}_2$  2.5 mM, dNTP (Fermentas) 1 mM, primer F (5'GAGCTAATCTGTAAAGTTGGTC3') และ primer R (5'GCTTCCTTGGCGTTAGCAAC3') (Qiagen) ชนิดละ 10 pmole, Taq polymerase (Fermentas) 1.25 units และสารพันธุกรรมที่สกัดได้ปริมาตร 5  $\mu\text{l}$  ซึ่งมีปริมาณสารพันธุกรรมประมาณ 250 ng ซึ่งทุกครั้งที่เตรียมปฏิกิริยา PCR จะมีเชื้อเอ็มจี เสตรน S6 (ATCC-15302) เป็นตัวควบคุมบวก และเชื้อเอ็มเอส เสตรน WVU 1853 (ATCC-25204) เป็นตัวควบคุมลบ จากนั้นนำมาเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมด้วยเครื่อง DNA thermal cycler (PCR Sprint, Thermo Electron Corporation, Milford, MA) ซึ่งมีปฏิกิริยาดังนี้คือ  $94^{\circ}\text{C}$ . เวลา 30 วินาที  $55^{\circ}\text{C}$ . เวลา 30 วินาที และ  $72^{\circ}\text{C}$ . เวลา 60 วินาที จำนวน 40 รอบ และตามด้วย  $72^{\circ}\text{C}$ . เวลา 5 นาที ซึ่งผลิตภัณฑ์ชิ้นส่วน PCR ที่ได้คือ 185 base pairs จากนั้นนำมาแยกด้วยกระแสไฟฟ้า (electrophoresis) ใน 2% agarose (Pharmacia Biotech AB, Uppsala, Sweden) ย้อมด้วย ethidium bromide และดูผลโดยใช้เครื่องมองภาพผ่านแสงยูวี (UV transilluminator) และบันทึกภาพ

#### การให้คะแนนรอยโรคของอุจลมช่องอกทางมหาวิทยาลัย

คะแนนรอยโรคของอุจลมช่องอกทางมหาวิทยาลัยดำเนินการตามวิธีของ Kleven และคณะ (1972) โดยมีคะแนนรอยโรคดังนี้

- 0 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคที่สังเกตได้
  - 1 พบกลุ่มเม็ดเลือดขาวลิมโฟไซต์หรืออุจลมขนาดเล็กน้อย
  - 2 เยื่ออุจลมหนาตัวขึ้นและมีหนองคลุมเล็กน้อย
  - 3 เยื่ออุจลมหนาตัวชัดเจนและมีหนองคลุมมากโดยพบรอยโรคเพียง 1 อุจ
  - 4 รอยโรคเช่นเดียวกับข้อ 3 พบรอยโรคมมากกว่า 1 อุจ
- คะแนนรอยโรคของอุจลมไก่แต่ละตัวพิจารณาจากผลรวมของคะแนนรอยโรคอุจลมข้างซ้ายและขวา โดยผลรวม

ของคะแนนรอยโรคของถุงลมไก่อ่แต่ละตัวมากที่สุด คือ 8

**การให้คะแนนรอยโรคของท่อลมทางจุลพยาธิวิทยา**

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

0 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของรอยโรคที่สังเกตเห็นได้

1 พบการรวมกลุ่มของเม็ดเลือดขาวโดยเฉพาะ ลิมโฟไซต์ปริมาณเล็กน้อย

2 เยื่อบุท่อลมหนาตัวขึ้นและมีการแทรกของเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดต่างๆ พบการบวมน้ำและเยื่อมีการเสื่อมสลายและตาย

3 เยื่อบุท่อลมหนาตัวชัดเจนและพบได้หลายบริเวณ

คะแนนรอยโรคของท่อลมไก่อ่แต่ละตัวทางจุลพยาธิวิทยาพิจารณาจากผลรวมของคะแนนรอยโรคของชิ้นเนื้อท่อลมทั้ง 4 ชิ้น โดยผลรวมของคะแนนรอยโรคของท่อลมไก่อ่แต่ละตัวมากที่สุด คือ 12

**การวิเคราะห์ผลทางสถิติ**

ทำการวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนไก่อ่ป่วยและตายด้วย Chi square test ส่วนคะแนนรอยโรคของถุงลมช่องอกทางมหพยาธิวิทยาและคะแนนรอยโรคของท่อลมทางจุลพยาธิวิทยาซึ่งข้อมูลเป็นแบบ nonparametric โดยใช้ Kruskal-Wallis test และ วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มด้วย Mann-Whitney U test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ( $p<0.05$ )

**ผล**

ไก่อ่กลุ่มที่ 1 (ควบคุม) กลุ่มที่ 2 (ได้รับเชื้อเอ็มจีสายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทย) และกลุ่มที่ 3 (ได้รับเชื้อเอ็มจีสายพันธุ์ S6) ระหว่างการทดลองที่ช่วงอายุ 1-21 วัน พบจำนวนไก่อ่ป่วยระหว่าง 2-15 ตัว อาการป่วยที่พบคือ ไอ จาม ตาแฉะ และน้ำมูก โดยแสดงอาการตั้งแต่วันที่ 5 ภายหลังการฉีดเชื้อของกลุ่มที่ 2 และวันที่ 7 ภายหลังการฉีดเชื้อของกลุ่ม

ที่ 3 จำนวนไก่อ่ตายระหว่าง 0-11 ตัว โดยเริ่มพบไก่อ่ตายตั้งแต่วันที่ 7 ภายหลังการฉีดเชื้อ เมื่อเปรียบเทียบจำนวนไก่อ่ป่วยและตายของกลุ่มต่างๆ พบว่าไก่อ่กลุ่มที่ 2 พบจำนวนไก่อ่ป่วยและตายมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 1 และ 3 อัตราการแลกเปลี่ยนของเหลวต่างๆระหว่าง 1.33-1.44 และผลตอบแทนที่ได้รับเฉลี่ยของกลุ่มที่ 1 2 และ 3 คือ 49.39, -12.87 และ 45.10 บาทตามลำดับ (ตารางที่ 1)

ค่าเฉลี่ยคะแนนรอยโรคของถุงลมช่องอกทางมหพยาธิวิทยาของกลุ่มที่ 1 2 และ 3 คือ 0.72, 3.11 และ 2.75 ตามลำดับ โดยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) ระหว่างกลุ่มที่ 1 และ 2 และ กลุ่มที่ 1 และ 3 ค่าเฉลี่ยคะแนนรอยโรคของท่อลมทางจุลพยาธิวิทยาของกลุ่มที่ 1 2 และ 3 คือ 0, 10.89 และ 7.2 ตามลำดับ โดยพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) ระหว่างกลุ่มที่ 2 และ 3 (ตารางที่ 2)

การตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธีอาร์พีทีที่ไก่อ่อายุ 1 วันพบว่าซีรัมของไก่อ่ให้ผลลบทุกตัวอย่างจากจำนวน 30 ตัวอย่าง และที่ไก่อ่อายุ 21 วัน ของกลุ่มที่ 1 2 และ 3 ซึ่งมีจำนวน 18, 9 และ 20 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบผลบวกจำนวน 0, 9 และ 20 ตัวอย่าง ตามลำดับ การตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธีอีไลซ่าที่ไก่อ่อายุ 1 วัน พบตัวอย่างซีรัมที่ให้ผลบวก 1 ตัวอย่างจากจำนวน 30 ตัวอย่าง และที่ไก่อ่อายุ 21 วัน ของกลุ่มที่ 1 2 และ 3 ซึ่งมีจำนวน 18, 9 และ 20 ตัวอย่าง ตามลำดับ พบผลบวกจำนวน 0, 3 และ 12 ตัวอย่าง ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีด้วยวิธีพีซีอาร์ที่ไก่อ่อายุ 1 วันก่อนทำการแยกกลุ่ม ไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีทั้ง 10 ตัวอย่าง และที่ไก่อ่อายุ 21 วัน ของกลุ่มที่ 1 2 และ 3 จำนวนกลุ่มละ 5 ตัวอย่าง พบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีจำนวน 0, 3 และ 1 ตัวอย่าง ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ส่วนไก่อ่ที่ตายของกลุ่มที่ 1 นั้นไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจี แต่พบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีของไก่อ่ที่ตายของกลุ่มที่ 2 จำนวน 9 ตัวอย่างจากจำนวนไก่อ่ที่ตาย 11 ตัว (81%) ส่วนการตรวจหาเชื้อ อี. โคลดี โดยการสุ่มตัวอย่างสำลิตที่ป้ายเชื้อที่ถุงลมจากไก่อ่ที่ตายและไก่อ่ที่นำมาผ่าซากเพื่อประเมินรอยโรคของทุกซ้าการทดลองนั้น ไม่พบการเจริญของเชื้อ อี. โคลดีของทุกตัวอย่างสำลิตที่ป้ายเชื้อ

**ตารางที่ 1** แสดงจำนวนไก่ป่วยและไก่ตาย (n = 20) อัตราการแลกเนื้อ และผลตอบแทนที่ได้รับ (บาท) ของไก่ช่วงอายุ 1-21 วัน (Mean  $\pm$  SD.)

กลุ่ม	จำนวนไก่ป่วย	จำนวนไก่ตาย	อัตราการแลกเนื้อ	ผลตอบแทนที่ได้รับต่อกลุ่ม (บาท)*
1	2 <sup>a</sup>	2 <sup>a</sup>	1.37 $\pm$ 0.03	49.39 $\pm$ 6.33
2	15 <sup>b</sup>	11 <sup>b</sup>	1.33 $\pm$ 0.08	-12.87 $\pm$ 3.22
3	4 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	1.44 $\pm$ 0.06	45.10 $\pm$ 5.83

<sup>ab</sup>: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

\*: (ราคาเนื้อไก่ 22 บาท/กก. X น้ำหนักตัวไก่ที่เพิ่มขึ้น) - (ราคาอาหารไก่ 11 บาท/กก. X ปริมาณอาหารที่ไก่กิน) - (ราคาลูกไก่ 6 บาท/ตัว X จำนวนไก่ 20 ตัว/กลุ่ม)

**ตารางที่ 2** แสดงค่าเฉลี่ยคะแนนรอยโรคทางมหพยาธิวิทยาของถุงลมและจุลพยาธิวิทยาของท่อลมของไก่ที่อายุ 21 วัน (Mean  $\pm$  SD)

กลุ่ม	คะแนนรอยโรคทางมหพยาธิวิทยาของถุงลม	คะแนนรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของท่อลม
1	0.72 $\pm$ 0.87 <sup>a</sup> (n=18)	0 (n=10)
2	3.11 $\pm$ 2.88 <sup>b</sup> (n=9)	10.89 $\pm$ 1.45 <sup>a</sup> (n=9)
3	2.75 $\pm$ 1.92 <sup>b</sup> (n=20)	7.20 $\pm$ 3.57 <sup>b</sup> (n=10)

<sup>abc</sup>: ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ )

**ตารางที่ 3** แสดงจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกด้วยวิธีอาร์พีทีและอีไลซ่าของไก่อายุ 1 และ 21 วัน

กลุ่ม	อาร์พีที		อีไลซ่า	
	1 วัน*	21 วัน	1 วัน*	21 วัน
1	-	0/18	-	0/18
2	0/30**	9/9	1/30	3/9
3	-	20/20	-	12/20

\*จำนวน 30 ตัวอย่างก่อนทำการแยกกลุ่ม

\*\*จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวก/จำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ทำการตรวจ

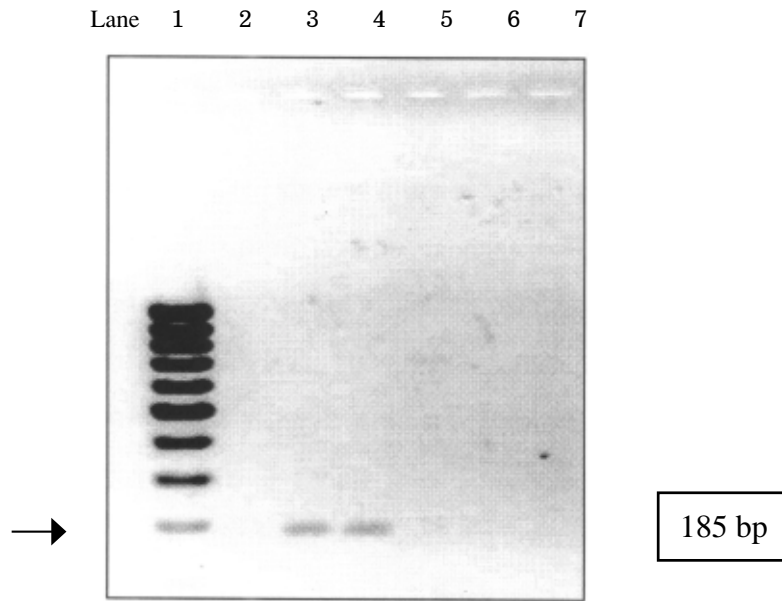
**ตารางที่ 4** แสดงจำนวนตัวอย่างที่ตรวจพบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีด้วยวิธีพีซีอาร์ของไก่ อายุ 1 และ 21 วัน

กลุ่ม	อายุ 1 วัน*	อายุ 21 วัน**
1	-	0/5
2	0/10***	3/5
3	-	1/5

\*จากการสุ่มรวมตัวอย่างของการป้ายเชื้อไก่จำนวน 30 ตัวก่อนทำการแยกกลุ่ม

\*\*จากการสุ่มรวมตัวอย่างของการป้ายเชื้อไก่จำนวน 5 ตัว/ซ้ำ รวมเป็น 5 ตัวอย่าง

\*\*\*จำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวก/จำนวนตัวอย่างทั้งหมดที่ทำการตรวจ



ภาพที่ 1 แสดงส่วนของพีซีอาร์ของเชื้อเอ็มจีขนาด 185 base pairs. Lane 1 แสดง 100 base-pair ladder ลูกศรแสดงที่ 185 base-pair. Lane 2 แสดงตัวควบคุมลบ. Lane 3 แสดงตัวควบคุมบวก. Lane 4-7 แสดงตัวอย่างจากไก่อกลุ่มต่างๆ

### วิจารณ์

ผลของการติดเชื้อ *มายโคพลาสมา กัลลิเซพติกัม* สายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทยในไก่อกระทง พบว่าสามารถก่อโรคและเกิดพยาธิสภาพ อาการป่วยและตายในไก่อกระทงรุนแรงกว่าสายพันธุ์ S6 โดยพบอาการป่วยและตายอย่างเด่นชัดจากการทดลองสามารถเหนี่ยวนำให้แสดงอาการป่วยของระบบทางเดินหายใจได้แก่ ไอ จาม น้ำมูก ตาและ เยื่อตาขาวแดงอักเสบได้ ในไก่อกระทงภายหลังจากการที่ได้รับเชื้อเอ็มจีสายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทยแล้ว 5 วันและเริ่มพบการตายตั้งแต่วันที่ 7 เป็นต้นไป ซึ่งคล้ายคลึงกับการรายงานของ Bradbury และ Levisohn (1996) และ Bradbury และคณะ (1994) ที่พบว่าอาการป่วยของระบบทางเดินหายใจจากการติดเชื้อเอ็มจีในห้องทดลองสามารถสังเกตได้ระหว่างวันที่ 6-21 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความรุนแรงของสายพันธุ์เอ็มจี การติดเชื้อร่วมกับโรคอื่น ความเครียด และปัจจัยจากสภาพแวดล้อมซึ่งทางผู้วิจัยได้ควบคุมปัจจัยจากความเครียดและสภาพแวดล้อมต่างๆ ที่มีผลต่อการศึกษารุ่นนี้ จึงอาจสรุปได้ว่าเชื้อเอ็มจีสายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทยมีความรุนแรงอย่างมากระบาดจากอาการทางคลินิกที่พบ จำนวนไก่อป่วยและตายอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการทดลองกลุ่มที่ 1 (ควบคุม) นั้นพบไก่อตาย 2 ตัว ที่อายุ 1 สัปดาห์ และนำมาผ่าซากพบว่าเกิดท้องมาน แต่ไม่พบรอยโรคที่บ่งบอกของการติดเชื้อเอ็มจี

และไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจี ใดๆก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการแลกเปลี่ยนของไก่อทั้ง 3 กลุ่ม พบว่ากลุ่มที่ 2 (ได้รับเชื้อเอ็มจีสายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทย) ติดอัตราการแลกเปลี่ยนนี้พิจารณาเฉพาะไก่อที่มีชีวิตเท่านั้น ทางผู้วิจัยจึงพิจารณาจากผลตอบแทนที่ได้รับ พบว่ากลุ่มที่ 1 ดีกว่าอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 3 แต่ทั้ง 2 กลุ่มดีกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ 2 ผลเสียจากการติดเชื้อเอ็มจีนอกจากปัญหากระเพาะเดินหายใจ ยังมีผลกระทบต่อน้ำหนักตัวไก่ (Ley, 2003) ซึ่งคล้ายคลึงกับผลการศึกษารุ่นนี้ และหากมีการส่งไก่อขายโรงเชือด ไก่อกลุ่มที่ 3 อาจถูกตัดราคาได้เนื่องจากการพบรอยโรคของถุงลมซึ่งมีผลกระทบต่อผลตอบแทนที่ได้รับ

การศึกษาพยาธิสภาพของถุงลมและท่อลมซึ่งผู้วิจัยได้ทำการศึกษาประเมินรอยโรคจากการผ่าซากด้วยวิธีที่ผู้ประเมินไม่ทราบกลุ่มการทดลอง (blind investigation) ผลพบว่าเชื้อเอ็มจีทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถก่อให้เกิดพยาธิสภาพของถุงลมและท่อลม คือ ถุงลมอักเสบ (Kleven et al., 1972; Ley, 2003) ท่อลมอักเสบ (Gaunson et al., 2000; Yagihashi and Tajima, 1986) หากพิจารณาเฉพาะกลุ่มที่ 2 และ 3 พบว่ากลุ่มที่ 2 พบคะแนนเฉลี่ยรอยโรคทางพยาธิวิทยาของถุงลมและทางจุลพยาธิวิทยาของท่อลมสูงกว่ากลุ่มที่ 3 โดยเฉพาะคะแนนเฉลี่ยรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของท่อลมนั้นแตกต่างกันอย่าง



มีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงว่าเชื้อเอ็มจีสายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทยมีความรุนแรงอย่างมากต่อไก่กระทง ส่วนกลุ่มที่ 1 ที่พบคะแนนรอยโรคทางมพยาธิวิทยาของอุ้งลมนั้นมีคะแนนที่ต่ำ อาจเนื่องจากการที่ไก่กลุ่มนี้เกิดปฏิกิริยาตอบสนองขึ้นจากการติดเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเข้าสู่อุ้งลมด้านซ้ายโดยตรงซึ่งผู้วิจัยได้ปฏิบัติให้คล้ายคลึงกับไก่กลุ่มที่ได้รับเชื้อเอ็มจี อย่างไรก็ตามผู้วิจัยก็ไม่พบอาการของระบบทางเดินหายใจในไก่กลุ่มนี้ อีกทั้งการที่ไม่พบคะแนนเฉลี่ยรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของทอลม ซึ่งให้เห็นว่ารอยโรคของอุ้งลมด้านซ้ายที่พบเป็นรอยโรคเฉพาะที่ซึ่งเกิดเนื่องจากการติดเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อเหลว โดยไม่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อเอ็มจี เป็นที่น่าเสียดายที่ผู้วิจัยไม่ได้หาความสัมพันธ์ระหว่างรอยโรคทางมพยาธิวิทยาของอุ้งลมและทางจุลพยาธิวิทยาของทอลม และผลการตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจี เนื่องจากการส่งตัวอย่างสำลีป้ายเชื้อเพื่อตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีนั้นเป็นการรวมตัวอย่างสำลีป้ายเชื้อ (pooled sample) จากไก่ 2 ตัว เป็น 1 ตัวอย่าง แต่จากการสังเกตพบว่าไก่ที่แสดงรอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาของทอลมที่มีระดับคะแนน 8 หรือมากกว่ามีแนวโน้มว่าจะพบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจี ซึ่งผู้วิจัยจะได้นำการศึกษาต่อไป

การตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธีอาร์พีทีและอีไลซ่าที่ไก่อายุ 1 วัน ไม่พบผลบวกด้วยวิธีอาร์พีที แต่พบผลบวก 1 ตัวอย่างจากจำนวน 30 ตัวอย่างด้วยวิธีอีไลซ่า ซึ่งคาดว่าน่าจะมาจากแอนติบอดีที่ถ่ายทอดมาจากแม่ และจากการที่ไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีก่อนทำการแบ่งกลุ่มทดลอง รวมถึงไม่พบแอนติบอดีในไก่กลุ่มที่ 1 ที่อายุ 21 วัน การที่พบแอนติบอดีเพียง 1 ตัวอย่าง ซึ่งอาจกล่าวได้ว่าไม่มีผลนัยสำคัญต่อผลการศึกษาค้นคว้านี้ เนื่องจากระดับแอนติบอดีในกระแสเลือดแทบจะไม่มีความสัมพันธ์กับการป้องกันโรคติดเชื้อเอ็มจี (Lam and Lin, 1984; Talkington and Kleven, 1985; Whithear et al., 1990) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า การพบแอนติบอดีที่ถ่ายทอดมาจากแม่ในไข่ฟัก สามารถลดความรุนแรงของการติดเชื้อผ่านไข่และลดอัตราการตายของตัวคัพพะที่ติดเชื้อ (Levisohn et al., 1985; Lin and Kleven, 1984) ส่วนไก่กลุ่มที่ 2 และ 3 ที่อายุ 21 วันพบแอนติบอดีต่อเชื้อเอ็มจีด้วยการตรวจทั้ง 2 วิธี โดยพบจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกด้วยวิธีอาร์พีทีมากกว่าวิธีอีไลซ่า ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าวิธีอาร์พีทีเป็นการตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgM โดยที่ IgM เป็นแอนติบอดีที่พบชนิดแรกของการตอบสนองต่อการติดเชื้อซึ่งจะพบประมาณวันที่ 7-10 ภายหลังจากการที่ผู้เลี้ยงไก่

ติดเชื้อเอ็มจี (Kleven, 1975; Kleven, 1998) วิธีอาร์พีทีเป็นวิธีที่มีความไว (sensitivity) แต่มีความจำเพาะ (specificity) ต่ำ (Kleven, 1998) ส่วนวิธีอีไลซ่าเป็นวิธีที่ตรวจหาแอนติบอดีชนิด IgG และ IgA ซึ่งเป็นแอนติบอดีที่พบภายหลังจากการสร้างแอนติบอดีชนิด IgM (Pastoret et al., 1996) ดังนั้นที่ไก่อายุ 21 วัน อาจจะมีไก่บางตัวที่มีการตอบสนองของแอนติบอดีชนิด IgG และ IgA ไม่สมบูรณ์ จึงเป็นเหตุผลที่พบจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกด้วยวิธีอาร์พีทีมากกว่าวิธีอีไลซ่า นอกจากนี้การแปรผลการตรวจด้วยวิธีอีไลซ่าของการศึกษาค้นคว้านี้ หากระดับแอนติบอดีสูงกว่าหรือเท่ากับ 744 ถือว่าเป็นผลบวก ซึ่งผู้วิจัยได้เปรียบเทียบเฉพาะจำนวนตัวอย่างที่ให้ผลบวกเท่านั้น อย่างไรก็ตามไก่ส่วนที่เหลือของกลุ่มที่ 2 และ 3 พบการตอบสนองของแอนติบอดีระดับที่แปรผลว่าสงสัย (ไม่ได้แสดงผลการทดลอง)

การตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีด้วยวิธีพีซีอาร์ที่ไก่อายุ 1 และ 21 วันพบว่าที่อายุ 1 วันไม่พบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจี แสดงว่าลูกไก่กระทงที่นำมาศึกษาไม่พบเชื้อเอ็มจีตั้งแต่เริ่มการทดลอง ส่วนที่อายุ 21 วัน พบสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีเฉพาะกลุ่มที่ 2 และ 3 แสดงว่าไก่กลุ่มที่ 2 และ 3 ได้รับเชื้อเอ็มจี นอกจากนี้ทางผู้วิจัยได้ตรวจหาสารพันธุกรรมของเชื้อเอ็มจีของไก่ที่ตายทุกตัว ภายหลังจากการได้รับเชื้อเอ็มจี ซึ่งพบเฉพาะไก่กลุ่มที่ 2 ประมาณ 81% แสดงว่าไก่ที่ตายเนื่องจากการติดเชื้อเอ็มจีและการศึกษาค้นคว้านี้ทางผู้วิจัยไม่พบการติดเชื้อ อี. โคัลลี ทั้งไก่ที่ตายและไก่ที่อายุ 21 วัน ซึ่งเชื้อ อี. โคัลลี เป็นเชื้อที่สามารถก่อให้เกิดรอยโรคอุ้งลมอักเสบได้เช่นกัน (Barnes et al., 2003)

## สรุป

ความรุนแรงของการติดเชื้อ *มายโคพลาสมา กัลลิเชพติกูม* สายพันธุ์ที่แยกได้ในประเทศไทยในไก่กระทงสามารถก่อโรคและเกิดพยาธิสภาพ อาการทางคลินิกที่พบจำนวนไก่ป่วยและตายในไก่กระทงรุนแรงกว่าสายพันธุ์ S6 โดยพิจารณาจากจำนวนไก่ป่วยและตาย อัตราการแลกเนื้อผลตอบแทนที่ได้รับ และค่าเฉลี่ยคะแนนรอยโรคทางมพยาธิวิทยาของอุ้งลมและจุลพยาธิวิทยาของทอลม

### กิตติกรรมประกาศ

ผู้ทำการวิจัยขอขอบคุณ รศ. อัจฉรา ธวัชสิน ผู้ให้คำแนะนำด้านสถิติ ผศ. น.สพ.ดร.นิวัตร จันทร์ศิริพรชัย น.สพ. ธวัชชัย โพธิ์เอื้อง น.สพ. ฉัตรชัย สารชัย สพ.ญ. สุวรัภย์ วรรณรัตน์ สพ.ญ. กฤดา ชูเกียรติศิริ ที่ช่วยด้านผ่าซากประเมินรอยโรค

### เอกสารอ้างอิง

จิโรจ ศศิปรียจันทร์. 1989 (2532). โรคที่เกิดจากเชื้อ *มัคโคพลาสมา* ในสัตว์ปีก: โรคสัตว์ปีก หน้า 78-92.

จิโรจ ศศิปรียจันทร์. 1999 (2542). โรคติดเชื้อ *มัคโคพลาสมา* ในสัตว์ปีก: เอกสารประกอบการบรรยาย การฝึกอบรมระยะสั้น เรื่องโรคและการป้องกันโรคไก่ ครั้งที่ 13 หน้า 122-133.

สมศักดิ์ ภัคภิญโญ จิโรจ ศศิปรียจันทร์ และธวัช เล็กดำรงศักดิ์. 2004 (2547). ความสัมพันธ์ของการติดเชื้อ *มัคโคพลาสมา* *กัลลิเซปติกูม* ของแม่พันธุ์และลูกไก่กระตังที่อายุ 1 และ 35-40 ในฟาร์มการค้า. เวชสารสัตวแพทย์. 34 (3): 59 - 67.

Barnes, H.J., Vaillancourt, J.P., and Gross, W.B. 2003. Colibacillosis. In: Diseases of Poultry. 11<sup>th</sup> ed. Y.M. Saif, H.J. Barnes, A.M. Fadly, J.R. Glisson, L.R. McDougald, and D.E. Swayne (eds.). Ames, IA: Iowa State University Press. 631-656.

Bradbury, J.M., Yavari, C.A. and Giles, C.J. 1994. *In vitro* evaluation of various antimicrobials against *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* by the micro-broth method, and comparison with a commercially-prepared test system. Avian Pathol. 23(1): 105-115.

Bradbury, J.M. and Levisohn, S. 1996. Experimental infections in poultry. In: Molecular and Diagnostic Procedures in Mycoplasma Volume II - Diagnostic Procedures. J.G. Tully (ed.). San Diego, CA: Academic Press. 361-370.

Gaunson, J.E., Philip, C.J., Whithear, K.G. and Browning, G.F. 2000. Lymphocytic infiltration in the chicken trachea in response to *Mycoplasma gallisepticum* infection. Microbiol. 146 (5): 1223-1229.

Jordan, F.T.W. and Pattison, M. 1996. Avian mycoplasmosis. In: Poultry disease. 4<sup>th</sup> ed. F.T.W. Jordan and M. Pattison (eds.). London: Billiere Tindall. 83-84.

Kempf, I., Blanchard, A. Gesbert, F., Guittet, M. and Bennejean, G. 1993. The polymerase chain reaction for *Mycoplasma gallisepticum* detection. Avian Pathol. 22 (4): 739-750.

Kleven, S.H., King, D.D. and Anderson, D.P. 1972. Airsacculitis in broilers from *Mycoplasma synoviae*: effect on air-sac lesions of vaccinating with infectious bronchitis and Newcastle virus. Avian Dis. 16 (4): 915-924.

Kleven, S.H. 1975. Antibody response to avian mycoplasmas. Am. J. Vet. Res. 36 (4): 563-565.

Kleven, S.H. 1998. Mycoplasmosis. In: A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. 4<sup>th</sup> ed. D.E. Swayne, J.R. Glisson, M.W. Jackwood, J.E. Pearson, and W.M. Reed (eds.). Kennett Square, PA: American Association of Avian Pathologists. 74-80.

Lam, K.M., and Lin, W. 1984. Resistance of chickens immunized against *Mycoplasma gallisepticum* is mediated by bursal dependent lymphoid cells. Vet. Microbiol. 9 (5): 509-514.

Lauerman, L.H. 1998. Mycoplasma PCR assays. In: Nucleic acid amplification assays for diagnosis of animal diseases. L.H. Lauerman. (ed.). Turckock, CA: American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians. 41-42.

Levisohn, S., Glisson, J.R. and Kleven, S.H. 1985. *In ovo* pathogenicity of *Mycoplasma gallisepticum* strains in the presence and absence of maternal antibody. Avian Dis. 29 (1):188-97.

Ley, D.H., Berkhoff, J.E. and Levisohn, S. 1997. Molecular epidemiologic investigations of *Mycoplasma gallisepticum* conjunctivitis in songbirds by random amplified polymorphic DNA analyses. Emerg. Infect. Dis. 3 (3): 375-80.

- Ley, D.H. 2003. *Mycoplasma gallisepticum* infection. In: Diseases of Poultry. 11<sup>th</sup> ed. Y.M. Saif, H.J. Barnes, A.M. Fadly, J.R. Glisson, L.R. McDougald, and D.E. Swayne (eds.). Ames, IA: Iowa State University Press. 122-144.
- Lin, M.Y. and Kleven, S.H. 1984. Transferred humoral immunity in chickens to *Mycoplasma gallisepticum*. Avian Dis. 28 (1):79-87.
- Mohammed, H.O., Carpenter, T.E. and Yamamoto, R. 1987. Economic impact of *Mycoplasma gallisepticum* and *M. synoviae* in commercial layer flocks. Avian Dis. 31 (3): 477-482.
- Pastoret, P.P., Griebel, P., Bazin, Z. and Govaerts A. 1996. Avian Immunology. In: Handbook of Vertebrate Immunology. P.P. Pastoret et al. (eds.). San Diego, CA: Academic Press. 91-92.
- Simon, M. S. 1997. Hand book of poultry disease. In: Mycoplasmosis. Singapore: American Soybean Association. 88.
- Talkington, F.D., and Kleven, S.H. 1985. Evaluation of protection against colonization of the chicken trachea following administration of *Mycoplasma gallisepticum* bacterin. Avian Dis. 29 (4): 998-1003.
- Whithear, K.G., Soeripto, K.E. Harrigan and E. Ghiocas. 1990. Immunogenicity of a temperature sensitive mutant *Mycoplasma gallisepticum* vaccine. Aust. Vet. J. 67 (5): 168-174.
- Yagihashi, T. and Tajima, M. 1986. Antibody responses in sera and respiratory secretions from chickens infected with *Mycoplasma gallisepticum*. Avian Dis. 30 (3): 543-550.