



246873



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การศึกษาระดับ acute phase proteins ที่สำคัญในไก่สายพันธุ์ที่มีการเลี้ยงอยู่ในอุตสาหกรรม
เลี้ยงไก่ในประเทศไทย และการนำค่าดัชนีของการอักเสบมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ภาวะสุขภาพของไก่
ในระดับฝูง

โดย

นรินทร์ อุประกรินทร์ และคณะ

31 สิงหาคม 2553



246873



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การศึกษาระดับ acute phase proteins ที่สำคัญในไก่สายพันธุ์ที่มีการเลี้ยงอยู่ในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ในประเทศไทย และการนำค่าดัชนีของการอักเสบมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ภาวะสุขภาพของไก่ในระดับฝูง

โดย

นรินทร์ อุประกรินทร์ และคณะ

31 สิงหาคม 2553

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การศึกษาระดับ acute phase proteins ที่สำคัญในไก่สายพันธุ์ที่มีการเลี้ยงอยู่ใน
อุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ในประเทศไทย และการนำค่าดัชนีของการอักเสบมาประยุกต์ใช้ในการ
การวิเคราะห์สภาวะสุขภาพของไก่ในระดับฝูง

คณะผู้วิจัย

คณะผู้วิจัย	สังกัด
1. นรินทร์ อุประกรินทร์	ภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะ สัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
2. วรวิทย์ วัชวัลคุ	ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
3. รุ่งโรจน์ แจ่มอัน	ภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะ สัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
4. อรรรรณ บุตรดี	ภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะ สัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
5. ภัทรา มุลจิตร	ภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะ สัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
6. Erik Gruys	Veterinary Extension Services, 3971HJ 9, The Netherlands

สนับสนุนโดยสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกอ. และ สกว. ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

กิตติกรรมประกาศ

โครงการ “การศึกษาระดับ acute phase proteins ที่สำคัญในไก่สายพันธุ์ที่มีการเลี้ยงอยู่ในอุตสาหกรรม การเลี้ยงไก่ในประเทศไทย และการนำค่าดัชนีของการอักเสบ มาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์สภาวะสุขภาพ ของไก่ในระดับฝูง” นี้ ได้รับการสนับสนุนจาก ทุนวิจัยของสำนักกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) (MGR4980144)

ขอขอบคุณงานชันสูตรโรคสัตว์ และ หน่วยงานสัตว์ทดลอง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่สนับสนุนเครื่องมือ และอุปกรณ์ต่างๆ ทางด้านการ วิเคราะห์โปรตีน และที่เอื้อเพื่อสถานที่ในการทดลอง สำหรับใช้ในการศึกษาครั้งนี้

ขอขอบคุณบริษัท อีโล ลิลลี่ เอเซียอิงค์ (สาขาประเทศไทย) ที่สนับสนุนทุนวิจัยในการสร้าง *in vivo* model ของ การเหนี่ยวนำโรค necrotic enteritis ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Clostridium perfringens* ใน ไก่เนื้อ ในโครงการวิจัยปีที่ 2

ขอขอบคุณ รศ.ดร.อภัสสร ชูเทศะ หัวหน้าภาควิชาสรีรวิทยา และ น.สพ.จตุพร หนูสุด ภาควิชาเวช ศาสตร์คลินิกสัตว์เลี้ยง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในการทำ electrophoresis โปรตีนแอลบูมิน ในส่วนของการทดลองเหนี่ยวนำการเกิด necrotic enteritis ในไก่เนื้อที่เกิดจาก เชื้อ *C. perfringens*

และท้ายสุดขอขอบคุณนิสิตชั้นปีที่ 6 คณะสัตวแพทยศาสตร์ดังรายนามต่อไปนี้ จิรนิจ เจริญสวัสดิ์ ชีว รัตน์ บุญเลิศ ฌลลิกา แก้วบริสุทธิ นิธิดา บุญวิทยา ผุสดี แสนวิเศษ สถาปัตย์ อิมโพธิ์ สาธิต ลิปิโรจ นพวงศ์ และ อมรพรรณ อยู่สุข ที่ช่วยเหลืองานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นรินทร์ อุปะกรินทร์

31 กรกฎาคม 2552

บทสรุปผู้บริหาร

ชื่อโครงการ: การศึกษาระดับ acute phase proteins ที่สำคัญในไก่สายพันธุ์ที่มีการเลี้ยงอยู่ในอุตสาหกรรม การเลี้ยงไก่ในประเทศไทย และการนำค่าดัชนีของการอักเสบมาประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ สภาวะสุขภาพ ของไก่ในระดับฝูง

รายนามนักวิจัย

นรินทร์ อุประกรินทร์	ภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วรวิทย์ วัชวัลคุ	ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
รุ่งโรจน์ แจ่มอัน	ภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
อรรธรณ บุตรดี	ภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ภัทรา มุลจิตร	ภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
Erik Gruys	Veterinary Extension Services, 3971HJ 9, The Netherlands

ในร่างกายของสัตว์ที่มีสุขภาพดี จะรักษาสภาวะสมดุลของร่างกาย (homeostatic state) ให้คงที่ หรือเรียกว่า สภาวะปกติ แต่ถ้าสัตว์ได้รับบาดเจ็บ มีการอักเสบในส่วนใดส่วนหนึ่งของร่างกายหรือ มีการติดเชื้อโรค ร่างกายจะมีการหลั่งสารต่างๆ เช่น pro-inflammatory cytokines หรือ ฮอร์โมน ซึ่งสารเหล่านี้ จะไปเหนี่ยวนำให้ สภาวะสมดุลของร่างกายขณะปกติ เปลี่ยนไปเป็น สภาวะสมดุลของร่างกายแบบตอบสนอง ต่อการอักเสบหรือการติดเชื้อ (acute phase conditions) ซึ่งสภาวะดังกล่าวจะมีการเปลี่ยนแปลงของค่า ต่างๆ ในกระแสเลือด โดยเฉพาะ acute phase proteins (APPs) เพื่อส่งเสริมการป้องกันของร่างกาย หรือ ช่วยร่างกายในการกำจัดเชื้อโรค

APPs แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่ม APPs ที่เพิ่มระดับขึ้นในกระแสเลือด (positive APPs) ภายหลังเกิดการอักเสบหรือการติดเชื้อและกลุ่ม APPs ที่ลดระดับลงในกระแสเลือด (negative APPs) นอกจากนี้ APPs ยังสามารถแบ่งย่อยได้อีก 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่ตอบสนองอย่างรวดเร็ว (fast reacting APPs) และกลุ่มที่ตอบสนองอย่างช้า (slow reacting APPs)

ในสัตว์หลายชนิดได้มีการศึกษาและนำค่าของระดับ APPs ในกระแสเลือดมาใช้เป็นตัววัด หรือติดตามสภาวะสุขภาพสัตว์ในกรณีต่างๆ เช่น กลุ่มโรคที่สังเกตอาการไม่ชัดเจนหรือไม่แสดงอาการ สัตว์ที่ติดเชื้อในระยะแรกๆ สภาวะการดำเนินการของโรค หรือ การตอบสนองต่อการรักษาในสัตว์ที่ป่วย

ในกลุ่ม APPs ที่มีการศึกษานั้น โปรตีน serum amyloid A (SAA) เป็น positive APP ที่ตอบสนองต่อสภาวะการอักเสบและการติดเชื้อที่รวดเร็วและไวที่สุด การศึกษาในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมระดับของโปรตีน SAA ในกระแสเลือดในสภาวะร่างกายปกติ จะอยู่ในระดับที่ต่ำมากหรืออยู่ในระดับที่ตรวจวัดไม่ได้ แต่เมื่อร่างกายมีการติดเชื้อโรค ระดับของ SAA จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วถึง 100-1000 เท่า ของระดับที่ร่างกายปกติ และ SAA มีค่า half life ที่สั้น คือเมื่อภายหลังจากที่สาเหตุถูกกำจัดออกไประดับ SAA จะลดลงอย่างรวดเร็วมาอยู่ในระดับที่ปกติภายใน 24-48 ชั่วโมง ฉะนั้น จึงได้มีการนำค่า SAA มาใช้เพื่อบ่งบอกสภาวะการติดเชื้อ หรือการดำเนินการของโรค ในสัตว์หลายชนิด เช่น วัว สุกร หรือแม้กระทั่งในคน

นอกเหนือจากการวัดระดับ APPs ในกระแสเลือดแล้ว การนำค่า APPs ที่วัดได้ ทั้งในกลุ่ม rapid-reacting positive APPs และ slow-reacting positive APPs และ ค่า negative APPs นั้นมาคำนวณหาค่าดัชนีของการอักเสบ [acute phase index, (API)] ก็จะสามารถเพิ่มความไวในการตรวจวินิจฉัยสภาวะร่างกายสัตว์ได้ดียิ่งขึ้น

ในส่วนของสัตว์ปีก positive APPs ที่เคยมีการศึกษาไว้ คือ C-reactive protein SAA alpha 1-acid glycoprotein hemopexin และ fibrinogen ส่วน negative APPs ที่มีการศึกษาในสัตว์ปีกคือ albumin (Alb) และ apolipoprotein A-I (ApoA-I) ส่วน serum transferrin (Trf) ในสัตว์ปีก หรือมักเรียกว่า ovotransferrin เป็น positive APP ซึ่งแตกต่างจาก Trf ของ สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม จะเป็น negative APP แต่อย่างไรก็ตาม ในสัตว์ปีกนั้น การศึกษาจุลนาศาสตร์ของ APPs นั้นมีน้อยมาก

จากการศึกษาครั้งนี้มี ได้ทำการทดลอง 2 ชุดการทดลอง ในการทดลองครั้งแรกได้ทำในไก่เนื้อในสภาวะลำไส้อักเสบจากการติดเชื้อ *Eimeria* spp. แล้วทำการวัดค่า APPs ที่ตรวจได้ ส่วนในการทดลองครั้งที่ 2 ได้ทำการทดลองในไก่เนื้อเช่นกัน โดยเหนี่ยวนำให้เกิดลำไส้อักเสบแบบ necrotic enteritis (NE) ที่เกิดจากการติดเชื้อ *Clostridium perfringens* ซึ่งปัญหา NE นี้ ได้ก่อปัญหาต่ออุตสาหกรรมในไก่เนื้อเป็นอย่างมาก จึงได้นำมาทดลอง เพื่อหาความเป็นไปได้ในการวินิจฉัยต่อไป ดังนั้น จุดประสงค์ทั้ง 2 การทดลองเพื่อศึกษา Trf Alb SAA และ ApoA-I ซึ่งเป็น APPs ที่สำคัญ ในไก่สายพันธุ์เนื้อที่มีการเลี้ยงอยู่ในอุตสาหกรรมไก่ในประเทศไทย ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า Trf และ Alb ในซีรัมภายหลังการติดเชื้อ หรือ การติดเชื้อ *C. perfringens* และได้ศึกษาค่า API มาบ่งชี้ สภาวะการติดเชื้อในไก่เนื้อ

จากผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า Trf มีค่าเพิ่มขึ้นภายหลังจากการติดเชื้อบิต ส่วน Alb และ ApoA-I มีค่าลดลง ส่วนการผลิตโปรตีน recombinant SAA โดยใช้เชื้อ *E. coli* สามารถนำไปใช้สร้าง antibodies ในกระต่ายและสามารถนำ anti-rchSAA antibodies มาใช้ตรวจ SAA ในซีรัมได้ ส่วน การนำค่า APPs ที่ได้มาคำนวณค่า API จากสูตรที่กำหนด พบว่าค่า API ของไก่ที่ติดเชื้อบิตมีค่าสูงกว่าของไก่ปกติ

ส่วนผลการศึกษาการประเมิน APPs และ API ในไก่เนื้อที่ติดเชื้อ *C. perfringens* ในการศึกษาครั้งนี้ประสบความสำเร็จในการเหนี่ยวนำโรค NE ด้วย *C. perfringens* พบว่ากลุ่มไก่ที่ติดเชื้อมีค่าดัชนีการผลิตไก่เนื้อต่ำกว่ากลุ่มควบคุม ระดับ TSP ในไก่ทั้ง 2 กลุ่มมีค่าใกล้เคียงกัน Trf เป็น positive

APP ในภาวะปกติมีค่าประมาณ 1 mg/ml ในไก่ที่มีรอยโรค NE มีค่า Trf สูงถึง 2-2.5 mg/ml Alb เป็น negative APP ในภาวะปกติมีค่าประมาณ 10 mg/ml เมื่อมีปัญหา NE Alb มีค่าลดลง ค่า API สามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มไก่ปกติและไก่ที่มีปัญหา NE ได้

จากผลการทดลองทั้ง 2 การทดลองพบว่า ค่า Trf Alb ที่ได้มีผลการศึกษาไปในแนวทางเดียวกัน และ การใช้ค่า API มาช่วยแยกความแตกต่างของสภาวะร่างกายไก่ที่ติดเชื้อมีความชัดเจน ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้สามารถสรุปได้ว่า ค่า APPs ที่นำมาศึกษานี้เมื่อดำหนดเป็นค่า API สามารถนำไปใช้ประเมินสุขภาพของฝูงไก่เนื้อได้

การเปลี่ยนแปลงของ ระดับ acute phase protein ในซีรัมของไก่เนื้อที่ติดเชื้อบิด

นรินทร์ อุประกรินทร์^{1*} วรวิทย์ รัชชวัลคุ² รุ่งโรจน์ แจ่มอัน¹ อรรณณ บุตรดี¹ ภัทรา มูลจิตร¹ Erik Gruys³

ภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Veterinary Extension Services, 3971HJ 9, The Netherlands

บทคัดย่อ

246873

การตอบสนองของร่างกายต่อการติดเชื้อหรือต่อการอักเสบจะทำให้เกิดภาวะ acute phase response มีการสร้าง acute phase proteins (APPs) เพิ่มขึ้นในกระแสโลหิต APPs สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือ positive และ negative APPs มีการใช้ APPs เป็น biomarker ในการบ่งชี้ภาวะสุขภาพในสัตว์ ในสัตว์ปีกพบว่ามีการศึกษาอย่างจำกัด serum transferrin (Trf) เป็น positive APP ในไก่ ปริมาณ Trf จะเพิ่มขึ้นในกระแสเลือดภายหลังจากการติดเชื้อ หรือการอักเสบ แต่ serum albumin (Alb) เป็น negative APP ในสัตว์ปีก จะมีปริมาณลดลงภายหลังจากการติดเชื้อ ได้ทำการศึกษาระดับของ Trf และ Alb ในไก่ที่มีปัญหาลำไส้อักเสบ โดยการป้อนเชื้อ *Eimeria* spp ในไก่แล้ววัดระดับ Trf และ Alb ที่เปลี่ยนแปลงวิธีการทดลองโดยนำไก่เนื้ออายุ 14 วันจำนวน 20 ตัวแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ๆ ละ 10 ตัว เป็นกลุ่มควบคุมและกลุ่มติดเชื้อ ในกลุ่มไก่ที่ติดเชื้อได้ทำการเหนี่ยวนำให้เกิดลำไส้อักเสบด้วยการป้อนเชื้อบิด 10^4 sporulated oocysts ของ *Eimeria acervulina*, *E. maxima*, และ *E. tenella* ทำการเจาะเลือดก่อนและหลังป้อนเชื้อไปแล้ว 7 วัน นำเลือดมาแยกซีรัมเพื่อการวิเคราะห์ต่อไป ทำการวัดระดับ total serum protein (TSP) ด้วยชุดตรวจ BCA assay kit และ Trf ตรวจด้วยวิธี gel electrophoresis ส่วน albumin (Alb) วัดด้วยวิธี cellulose acetate gel electrophoresis ระดับค่าเฉลี่ยของ Trf ในไก่กลุ่มควบคุมมีค่า 1.42 ± 0.03 (mean $\pm$ SD) mg/ml ในไก่ที่ลำไส้อักเสบ Trf มีค่าสูงขึ้น (2.96 ± 0.13 mg/ml) ระดับ Alb ไม่แตกต่างในไก่ทั้ง 2 กลุ่ม จากการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า Trf มีค่าสูงขึ้นในไก่ที่ลำไส้อักเสบและสามารถใช้ Trf เป็น โปรตีนบ่งชี้ภาวะไก่ที่มีปัญหาการติดเชื้อบิดและลำไส้อักเสบได้

*Corresponding author. E-mail: fvetnru@ku.ac.th

Changes in serum acute phase protein levels during experimental-induced coccidial infection in broiler chickens.

Narin Upragarin^{1*}, Worawidh Wajjwalku², Rungroj Jam-on¹, Pattha Moonjit¹, Orawan Boodde¹, Erik Gruys³

¹Department of Farm Resources and Production Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

²Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakhon Pathom, 73140 Thailand

³ Veterinary Extension Services, 3971HJ 9, The Netherlands

Abstract

246873

During reaction upon infection and inflammation an acute phase response occurs. In blood acute phase proteins (APPs) have been defined. These APPs are divided in two groups, positive and negative ones. APPs have been used as a biomarker to assess animal health so far; for poultry, however, limited data are available. Serum transferrin (Trf) is an acute phase protein in chicken. Its concentration increases in circulating blood after infection or inflammation. Unlike trf, albumin (Alb) is one of the negative APPs and its level decreases after infection. To understand the changes of serum levels of Trf and Alb in birds with enteritis conditions, chickens were inoculated with *Eimeria* spp. and later on the levels of Trf and Alb in serum samples were measured. Twenty 14-day-old commercial broiler chickens were divided into two groups (10 birds each). The enteritis group was orally inoculated with a mixture of $\sim 10^4$ live, sporulated oocysts (mix of equal amounts of *Eimeria acervulina*, *E. maxima*, and *E. tenella*) while the control birds were in a healthy condition. Blood sample was collected individually from all birds of each group before and 7 days after *Eimeria* spp. inoculation and the serum sample was obtained for further analysis. Total serum protein in each sample was measured using the BCA assay kit and the Trf was identified by gel electrophoresis and immunoblotting and protein quantities in the samples were measured by densitometry. The concentration of Alb in serum samples were measured by cellulose acetate gel electrophoresis. The mean serum Trf level in the control chickens was 1.42 ± 0.03 (mean $\pm$ SD) mg/ml. In the enteritis chickens the mean serum Trf level (2.96 ± 0.13 mg/ml) was higher than that in the control chickens. However, there was no difference in the Alb levels of both groups. The results showed that Trf was increased in the chicken with enteritis conditions as a positive acute phase protein. It is concluded that Trf can be used as an acute phase protein marker in a chicken flock with enteritis due to coccidiosis.

*Corresponding author. E-mail: fvetnru@ku.ac.th

การประเมิน acute phase proteins และค่าดัชนีของการอักเสบในไก่เนื้อ ที่ติดเชื้อ *Clostridium perfringens*

นรินทร์ อุประกรินทร์¹ วรวิทย์ วัชวัลคุ² รุ่งโรจน์ แจ่มอัน¹ นวลอนงค์ สีนวดี¹ เกรียงไกร วิฑูรย์เสถียร¹ อรรวรรณ บุตรดี¹
ภัทรา มุลจิตร¹ ศรีสสมัย วิริยารัมภะ³ และ Erik Gruys⁴

¹Department of Farm Resources and Production Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaengsaen
Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

²Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakhon Pathom, 73140
Thailand

³Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakhon
Pathom, 73140 Thailand

⁴ Veterinary Extension Services, 3971HJ 9, The Netherlands

บทคัดย่อ

246873

การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาระดับของ acute phase proteins (APPs) และประเมินค่า acute phase index (API) ในกระแสน้ำโลหิตของในไก่เนื้อที่ติดเชื้อ *Clostridium perfringens* วิธีการทดลองใช้ไก่เนื้อ 80 ตัว แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม (กลุ่มละ 40 ตัว) คือกลุ่มควบคุม และกลุ่มเหนี่ยวนำให้เกิดโรค necrotic enteritis (NE) โดยการป้อนเชื้อ 10^{10} CFU/ *C. perfringens* ที่แยกได้จากไก่ป่วย ทำการเก็บตัวอย่างเลือดก่อนการป้อนเชื้อจนถึงสิ้นสุดการทดลอง นำตัวอย่างเลือดมาแยกซีรัมเพื่อตรวจความเข้มข้นของ total serum protein (TSP) serum transferrin (Trf) และ serum albumin (Alb) และทำการผ่าซากให้คะแนนรอยโรคและเพาะหาปริมาณเชื้อ *C. perfringens* เมื่ออายุ 21 วันและ 42 วัน ผลการศึกษาพบว่าในไก่กลุ่มที่ติดเชื้อมีรอยโรค NE ที่อายุ 21 วันและ 42 วัน ในกลุ่มไก่ที่ติดเชื้อมีค่าดัชนีการผลิตไก่เนื้อต่ำกว่ากลุ่มควบคุม Trf เป็น positive APP ในภาวะปกติมีค่าประมาณ 1 mg/ml ในไก่ที่มีรอยโรค NE มีค่าสูงถึง 2-2.5 mg/ml ส่วน Alb เป็น negative APP ในภาวะปกติมีค่าประมาณ 10 mg/ml เมื่อมีปัญหา NE Alb มีค่าลดลง การประเมินค่า API พบว่าสามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มไก่ปกติและไก่ที่มีปัญหา NE ได้ ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำค่า API ที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้ไปพัฒนาใช้ในการประเมินสุขภาพของฝูงไก่เนื้อได้

*Corresponding author. E-mail: fvetnru@ku.ac.th

Evaluation of acute phase proteins and acute phase indexes in broilers infected with *Clostridium perfringens*

Narin Upragarin^{1*}, Worawith Wajjwalku², Rungroj Jam-on¹, Nuananong Sinwat¹, Kriangkrai Witoonsatian¹
Orawan Booddee¹, Pathaa Muljitr¹, Srisamai wiriyarampa³, Erik Gruys⁴

¹Department of Farm Resources and Production Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

²Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakhon Pathom, 73140 Thailand

³Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Kamphaengsaen Campus, Nakhon Pathom, 73140 Thailand

⁴ Veterinary Extension Services, 3971HJ 9, The Netherlands

Abstract

246873

The objective of the study was to determine levels of acute phase proteins (APPs) and acute phase index (API) in the blood circulation of broilers infected with *Clostridium perfringens*. Eighty broilers were divided into two groups (40 birds each) in which necrotic enteritis group inoculated orally by field isolated of 10^{10} CFU/ bird *C. perfringens* while control group was in a healthy condition. Blood was collected individually from birds of each group before and during the experimental period and the serum samples were obtained for analysis of total serum protein (TSP), serum transferrin (Trf), and serum albumin (Alb). Necropsy was performed on 10 birds per group for necrotic enteritis (NE) score at age of 21 day and 42 day, respectively. The results showed that all birds infected with *C. perfringens* had NE lesion but not in control birds. The mean serum Trf levels in all chicken groups about 1 mg/ml at normal conditions and increased to 2–2.5 mg/ml in birds with NE lesion. Alb is a negative APP and its level is about 10 mg/ml at normal conditions. In this experiment, birds with NE lesion had lower level of Alb. The API values in healthy birds were lower than Birds with NE lesion. The API is a suitable biomarker to assess the chicken health conditions.

*Corresponding author. E-mail: fvetnru@ku.ac.th

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	iii
บทสรุปผู้บริหาร	iv
บทคัดย่อ: การเปลี่ยนแปลงของ ระดับ acute phase protein ในซีรัมของไก่เนื้อที่ติดเชื้อบิด	vii
Abstract: Changes in serum acute phase protein levels during experimental-induced coccidial infection	viii
บทคัดย่อ: การประเมิน acute phase proteins และค่าดัชนีของการอักเสบในไก่เนื้อ ที่ติดเชื้อ <i>Clostridium perfringens</i>	ix
Abstract :Evaluation of acute phase proteins and acute phase indexes in broilers infected with <i>Clostridium perfringens</i>	x
สารบัญ	xi
สารบัญรูป	xiv
สารบัญตาราง	xv
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทบทวนเอกสารและผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการวิจัย	5
3.1 การทดลองการเหนี่ยวนำให้ไก่เกิดภาวะ acute phase response	5
3.2 การตรวจวัดความเข้มข้นของ total serum proteins ในตัวอย่างซีรัม	5
3.3 การตรวจวัดระดับ serum transferrin ในตัวอย่างซีรัม	5
3.4 การตรวจวัดระดับ serum albumin ในตัวอย่างซีรัม	6
3.5 การตรวจ Serum amyloid A ในตัวอย่างซีรัม	6
3.5.1 การผลิต โปรตีน recombinant chicken SAA	6
3.5.2 การผลิต rabbit antiserum ต่อ rchSAA	7
3.6 การตรวจระดับ apolipoprotein A-I ในตัวอย่างซีรัม	8
3.7 การคำนวณค่าดัชนีของการอักเสบ (acute phase index, API)	8
3.8 การวิเคราะห์ข้อมูล	8
บทที่ 4 ผลการศึกษา	9
4.1 การเหนี่ยวนำให้ไก่เกิดภาวะ acute phase response	9
4.2 ระดับความเข้มข้นของ TSP ในตัวอย่างซีรัม	9

เรื่อง	หน้า
4.3 ผลการตรวจวัดระดับความเข้มข้นของ Trf ในตัวอย่างซีรัม	10
4.4 ผลการตรวจวัดระดับความเข้มข้นของ Alb ในตัวอย่างซีรัม	11
4.5 ผลการตรวจ SAA ในตัวอย่างซีรัม	13
4.6 การตรวจระดับ ApoA-I ในตัวอย่างซีรัม	13
4.7 ผลการคำนวณค่าดัชนีของการอักเสบ (API)	13
บทที่ 5 วิจัยผลการทดลองวิจัยผลการทดลอง สรุปผลและข้อเสนอแนะ	17
5.1 วิจัยผลการทดลอง	17
5.2 สรุปผล	19
5.3 ข้อเสนอแนะ	20
เอกสารอ้างอิง	21
บทที่ 6 การประเมิน acute phase proteins และค่าดัชนีของการอักเสบในไก่เนื้อ ที่ติดเชื้อ <i>Clostridium perfringens</i>	27
บทคัดย่อ	27
Abstract	28
6.1 บทนำ	29
6.2 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	30
6.2.1 สัตว์ทดลองและอาหาร	30
6.2.2 เชื้อแบคทีเรีย <i>C. perfringens</i>	30
6.2.3 การเหนี่ยวนำให้ไก่เกิดรอยโรค NE จากการติดเชื้อ <i>C. perfringens</i> และการ พิสูจน์รอยโรค	30
6.2.4 การวัดดัชนีการผลิตในการเลี้ยงไก่เนื้อ	31
6.2.5 การเก็บตัวอย่างซีรัม	31
6.2.6 การตรวจหาระดับความเข้มข้นของ total serum protein (TSP) ในตัวอย่างซีรัม	31
6.2.7 การตรวจหาระดับความเข้มข้นของ Trf	31
6.2.8 การตรวจหาระดับความเข้มข้นของ Alb	32
6.2.9 การคำนวณค่าดัชนีของการอักเสบ (acute phase index, API)	32
6.2.10 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	32
6.3 ผลการศึกษา	33
6.3.1 ผลการเหนี่ยวนำให้ไก่ติดเชื้อ <i>C. perfringens</i> และพิสูจน์รอยโรค	33
6.3.2 ผลของการเพาะนับปริมาณเชื้อ <i>C. perfringens</i> ใน cecum ของไก่	34
6.3.3 ผลของค่าดัชนีของการผลิตของไก่เนื้อ	35
6.3.4 ผลของระดับ TSP	36
6.3.5 ผลการตรวจระดับความเข้มข้นของ Trf	36
6.3.6 ผลการตรวจระดับความเข้มข้นของ Alb	37

เรื่อง	หน้า
6.3.7 ผลการคำนวณค่าดัชนีของการอักเสบ (API) จากค่า APPs ที่ตรวจ	38
6.4 วิจารณ์ผลการศึกษา	39
6.5 สรุป	40
6.6 กิตติกรรมประกาศ	40
6.7 เอกสารอ้างอิง	41
ภาคผนวก	43

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
การเปลี่ยนแปลงของ ระดับ acute phase protein ในซีรัมของไก่เนื้อที่ติดเชื้อมี	
1 แสดงรอยโรคของไก่ในกลุ่มที่เหนียวทำให้เกิดภาวะ APR โดยป้อนเชื้อบิตทำให้เกิด ลำไส้อักเสบ	10
2 แสดงการวิเคราะห์ Trf ใน ซีรัมไก่ด้วย 15 % SDS PAGE	11
3 แสดงผลของการวัดความเข้มข้นของ Alb ในซีรัมด้วยวิธี cellulose acetate gel electrophoresis	12
4 แสดงผลการตรวจของ SAA ด้วย 15% SDS-6 M urea-PAGE ของซีรัมไก่	14
5 แสดงผลการตรวจ ApoA-I บน 15 % SDS-PAGE under non-reducing condition	15
6 กราฟแสดงค่าเฉลี่ยของระดับ TSP, Alb และ Trf ในซีรัมของไก่	15
การประเมิน acute phase proteins และค่าดัชนีของการอักเสบในไก่เนื้อ	
ที่ติดเชื้อ <i>Clostridium perfringens</i>	
6.1 แสดงรอยโรคของลำไส้ของไก่ในกลุ่มที่ติดเชื้อ <i>C. perfringens</i>	33
6.2 แสดงการเปลี่ยนแปลงของระดับความเข้มข้น TSP ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	36
6.3 แสดงกราฟของการเปลี่ยนแปลงของระดับ Trf ก่อนและภายหลังจากป้อนเชื้อ <i>C.</i> <i>perfringens</i> ของไก่ในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง	37
6.4 แสดงกราฟของค่าเฉลี่ยระดับความเข้มข้นของ Alb ของไก่ในกลุ่มควบคุมและกลุ่ม ทดลอง	38
6.5 แสดงกราฟของค่าเฉลี่ยดัชนีของการอักเสบ (API) ของไก่ในกลุ่มควบคุมและกลุ่ม ทดลอง	39

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
การเปลี่ยนแปลงของ ระดับ acute phase protein ในซีรัมของไก่เนื้อที่ติดเชื้อบิด	
1 แสดงระดับความเข้มข้นของ TSP ในไก่ทั้งสองกลุ่ม	9
2 แสดงระดับความเข้มข้นของ Trf ในไก่ทั้งสองกลุ่ม	12
3 แสดงระดับความเข้มข้นของ Alb ในไก่ทั้งสองกลุ่ม	12
4 แสดงค่าดัชนีของการอักเสบ (API) ในไก่ทั้งสองกลุ่ม	14
การประเมิน acute phase proteins และค่าดัชนีของการอักเสบในไก่เนื้อ ที่ติดเชื้อ <i>Clostridium perfringens</i>	
6.1 แสดงผลคะแนนรอยโรค NE ของไก่ทั้ง 2 กลุ่มที่อายุ 21 วันและอายุ 42 วัน	34
6.2 แสดงผลของการนับจำนวนเชื้อ <i>C. perfringens</i> ใน cecum ($\log_{10}$ CFU/g content) ของไก่ที่ผ่าซากในแต่ละกลุ่มที่อายุ 21 วันและ 42 วัน	34
6.3 แสดงค่าเฉลี่ยของการกินอาหารสะสมต่อตัว (feed consumption) ตลอดระยะเวลาที่ศึกษาของไก่ทั้ง 2 กลุ่ม	35
6.4 แสดงค่าเฉลี่ยของน้ำหนักร่างกายต่อตัวของไก่ทั้ง 2 กลุ่ม ตลอดระยะเวลาที่ศึกษา	35
6.5 แสดงค่าเฉลี่ย อัตราการแลกเนื้อ (feed conversion) ของไก่ทั้ง 2 กลุ่ม	35