

REVIEW ARTICLE

The Role of a Novel toxin “NetB” on the Pathogenesis of Necrotic Enteritis in Chickens

Tawatchai Pohuang*

Abstract

Necrotic enteritis caused by *Clostridium perfringens* is the common economic losses in poultry industries worldwide. However, the exact mechanism behind the pathogenesis of *C. perfringens* is poorly understood. Historically, the alpha-toxin produced by *C. perfringens* has been regarded as the major virulence factor for the development of necrotic enteritis in chickens. Recent studies of some researchers indicate that the role of alpha-toxin on the pathogenesis of necrotic enteritis has been called into question. It has been reported that alpha toxin produced by *C. perfringens* does not show a positive correlation with necrotic enteritis. Furthermore, a new toxin of *C. perfringens*, designed necrotic enteritis toxin B (NetB), was identified and suggested to be critical to the development of necrotic enteritis in experimental chickens. The supporting data showed that the presence of *netB*-gene in *C. perfringens* strains was shown to be higher in samples from outbreaks of necrotic enteritis than in samples from non-lesion of necrotic enteritis flocks. These indicate that NetB is associated with the pathogenesis of necrotic enteritis in chickens. However, some researchers had reported the induction of necrotic enteritis by *netB*-negative *C. perfringens* strains, questioning the clear cut correlation between necrotic enteritis and NetB. Therefore, the role of other factors that induce necrotic enteritis in chickens needs to be further investigation.

KKU Vet J. 2012;22(1):71-78.

<http://vmj.kku.ac.th/>**Keywords:** Necrotic enteritis; Chickens; *Clostridium perfringens*; NetB

*Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

E-mail: ptawat@kku.ac.th

บทบาทของชีวพิษชนิดใหม่ “NetB” ต่อการเกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายในไก่

รัชชัย โพธิ์เอื้อง*

บทคัดย่อ

โรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายที่เกิดจากเชื้อ*คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์* เป็นโรคที่ทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ในหลายประเทศทั่วโลก แต่ยังไม่มีความรู้ที่สามารถอธิบายกลไกในการเกิดโรคได้อย่างชัดเจน ในอดีตนั้นมีความรู้เกี่ยวกับชีวพิษแอลฟา (alpha-toxin) ที่สร้างจากเชื้อแบคทีเรีย *คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์* เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายในไก่ ในปัจจุบันมีบางรายงานการศึกษาที่พบว่า alpha-toxin ของเชื้อ *คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์* ไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายในไก่ จึงทำให้เกิดความสงสัยเกี่ยวกับการเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดโรคของ alpha-toxin นอกจากนี้ยังได้มีการค้นพบชีวพิษชนิดใหม่ที่เรียกว่า necrotic enteritis toxin B (NetB) ซึ่งสามารถทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายในไก่ได้ และมีรายงานที่ตรวจพบยีนที่ควบคุมการสร้าง NetB จากเชื้อ *คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์* ที่แยกได้จากไก่ที่เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายมากกว่าเชื้อ *คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์* ที่แยกได้จากไก่ที่ไม่เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย แสดงให้เห็นว่า NetB เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย อย่างไรก็ตามนักวิจัยบางท่านได้รายงานข้อมูลที่ขัดแย้งว่าในบางครั้งก็ตรวจไม่พบ NetB จากเชื้อ *คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์* ที่แยกได้จากไก่ที่เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย ดังนั้นอาจจะยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่ทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายได้ ซึ่งควรมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มช. 2555;22(1):71-78.

<http://vmj.kku.ac.th/>

คำสำคัญ: โรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย ไก่ *คลอสตริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์* NetB

*ภาควิชาอายุรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

E-mail: ptawat@kku.ac.th

บทนำ

โรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย (necrotic enteritis) เป็นโรคที่ทำให้เกิดความเสียหายทางเศรษฐกิจต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่ เนื่องจากต้องเสียค่าใช้จ่ายในการใช้สารต้านจุลชีพเพื่อการรักษาโรคและไก่ป่วยมีอัตราการแลกเนื้อไม่ดี [1] แม้ว่าการใช้สารต้านจุลชีพผสมในอาหารที่ใช้เลี้ยงไก่จะ

มีส่วนช่วยลดอัตราการเกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย แต่ในปัจจุบันพบปัญหาการติดต่อสารต้านจุลชีพของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเพิ่มขึ้นทั้งในคนและไก่ ซึ่งทั้งสองเหตุการณ์ดังกล่าวมีความสัมพันธ์กันเนื่องจากไก่ที่เลี้ยงในระบบอุตสาหกรรมนั้นถูกนำมาใช้เป็นอาหารของคน จึงมีโอกาสถ่ายทอดเชื้อติดต่อสารต้านจุลชีพจากไก่มาสู่คน มาตรการแก้ไขปัญหาในหลายประเทศจึงได้มีการยกเลิกการผสมสารต้านจุลชีพในอาหารที่ใช้เลี้ยงไก่ ผลกระทบที่ตามมาคือพบอัตราการเกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายเพิ่มมากขึ้น นอกจากนี้อาจมีปัจจัยโน้มนำที่ช่วยส่งเสริมให้เกิดโรคได้ง่ายขึ้น เช่น สภาพเปียกชื้นของวัสดุรองพื้นที่ใช้เลี้ยงไก่ เซลล์เยื่อลำไส้ถูกทำลายจากการติดเชื้อบิด เป็นต้น [2]

ชีวพิษ (toxin) ที่สร้างจากเชื้อแบคทีเรีย *คลอสทริเดียม เพอร์ฟริงเจนส์* ชนิดเอ หรือซี (*Clostridium perfringens* type A or C) เป็นสาเหตุหลักของการเกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย โดยปกติแล้วเชื้อ *C. perfringens* เป็นแบคทีเรียที่สามารถตรวจพบได้ภายในทางเดินอาหารของไก่และภายในสิ่งแวดล้อมรอบๆ โรงเรือนเลี้ยงไก่ [3] แต่เมื่อมีปัจจัยโน้มนำที่เหมาะสมจะทำให้เชื้อก่อโรคได้ ซึ่งพบรายงานการเกิดโรคในสัตว์ปีกหลายชนิด เช่น ไก่และไก่วง เป็นต้น อาการของโรคพบทั้งแบบแสดงอาการ (clinical disease) และแบบไม่แสดงอาการ (subclinical disease) ซึ่งแบบแสดงอาการจะพบไก่ป่วยมีอาการซึม ไม่กินอาหาร ถ่ายเหลว และตายภายใน 2-3 ชั่วโมงภายหลังแสดงอาการ ส่วนแบบไม่แสดงอาการนั้น ไก่ที่ติดเชื้อจะพบอัตราการเจริญเติบโตต่ำและภายหลังจากการผ่าซากจะพบจุดเนื้อตายภายในลำไส้ [4] พยาธิสภาพจากการติดเชื้อเกิดจากการเพิ่มจำนวนของเชื้ออย่างมากภายในลำไส้และมีการสร้างชีวพิษหลายชนิดออกมาทำลายเยื่อลำไส้ [5]

ในอดีตที่ผ่านมาเชื่อกันว่าชีวพิษแอลฟา (alpha-toxin) เป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย [6,7] แต่จากการศึกษาของ Gholamiandekhordi et al. ในปีค.ศ. 2006 [8] พบว่าระดับของ alpha-toxin ที่ตรวจพบจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *C. perfringens* ที่แยกได้จากไก่ป่วยและไก่ปกติไม่แตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wilkie et al. ในปี ค.ศ. 2006 [9] ที่พบว่าระดับของ alpha-toxin ไม่สัมพันธ์กับความรุนแรงของรอยโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของ Keyburn et al. ในปีค.ศ. 2006 [10] ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน *plc* ซึ่งควบคุมการสร้าง alpha-toxin ของเชื้อ *C. perfringens* โดยการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะทำให้เชื้อไม่สามารถสร้าง alpha-toxin ได้ จากนั้นทำการป้อนเชื้อให้ไก่เนื้อพันธุ์ Ross 308 พบว่าไก่ที่ได้รับเชื้อที่ถูกทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน *plc* มีรอยโรคไม่แตกต่างจากเชื้อปกติ แสดงให้เห็นว่า alpha-toxin ไม่ใช่ปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดรอยโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย ภายหลังจากรายงานดังกล่าวในปีค.ศ. 2008 Keyburn et al. [11] ได้ศึกษาเพิ่มเติมและสามารถแยก necrotic enteritis toxin B (NetB) ได้เป็นครั้งแรก ซึ่งเป็นชีวพิษที่พบได้จากเชื้อ *C. perfringens* ที่ทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย ดังนั้น NetB น่าจะเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญที่ทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายในไก่

ลักษณะทางโมกุลของ NetB

การค้นพบ NetB ครั้งแรกนั้นเกิดจากการศึกษาความสามารถในการก่อโรคของเชื้อ *C. perfringens* สายพันธุ์ EHE-NE18 ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีน *plc* ซึ่งควบคุมการสร้าง alpha-toxin แต่พบว่าเชื้อดังกล่าวยังสามารถทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายได้ ซึ่งต่อมาได้แยก NetB ซึ่งเป็นชีวพิษชนิดใหม่ที่มีคุณสมบัติในการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ที่เป็นสารประกอบของฟอสเฟตและไขมัน (phospholipid membrane) ทำให้เกิดการเคลื่อนผ่านเซลล์ของสารที่มีประจุ เช่น Na^+ , Cl^- และ Ca^{2+} เป็นต้น [12] NetB เป็น โปรตีนที่มีขนาดประมาณ 33 kDa จัดเป็น pore forming toxin ประกอบด้วยกรดอะมิโนจำนวน 323 กรดอะมิโน จากการวิเคราะห์ความเหมือนกรดอะมิโนของ NetB กับ โปรตีนอื่นๆ พบว่ามีความแตกต่างจากชีวพิษหรือ โปรตีนที่สร้างจากแบคทีเรียอื่นๆ ที่เคยมีรายงาน โดยมีความเหมือนร้อยละ 38 กับ beta-toxin ของเชื้อ *C. perfringens* ร้อยละ 29 กับ hemolysin II ของเชื้อ *Bacillus cereus* ซีเรียส (Bacillus cereus) ร้อยละ 30 กับ hemolysin precursor ของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ออเรียส (Staphylococcus aureus) [11] ร้อยละ 40 กับ O-toxin ของเชื้อ *C. perfringens* และร้อยละ 27 กับ cytotoxin K ของเชื้อ *B. cereus* [12] นอกจากนี้เมื่อนำลำดับทางพันธุกรรมของ NetB ไปวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการร่วมกับชีวพิษของเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ ผลพบว่า NetB มีวิวัฒนาการใกล้เคียงกับ beta-toxin ของเชื้อ *C. perfringens* แต่เมื่อนำข้อมูลดังกล่าวมาประกอบกับร้อยละความเหมือนของลำดับทางพันธุกรรมแล้วพบว่าชีวพิษทั้ง 2 ชนิดนี้มีความเหมือนกันไม่มากนักดังนั้น NetB จึงไม่น่าจะจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับ beta-toxin [11]

การตรวจพบยีนที่ควบคุมการสร้าง NetB กับการเกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย

การปรากฏของยีนที่ควบคุมการสร้าง NetB ของเชื้อ *C. perfringens* มีความสัมพันธ์กับการเกิดโรค ลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย จากรายงานของ Keyburn et al. ในปีค.ศ. 2008 [11] พบว่าเชื้อ *C. perfringens* จำนวน 14 สายพันธุ์จาก 18 สายพันธุ์ที่แยกได้จากไก่ที่ป่วยเป็นโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย มีการตรวจพบยีนที่ควบคุมการสร้าง NetB ส่วนเชื้อ *C. perfringens* จำนวน 32 สายพันธุ์ที่ไม่ทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย รวมทั้งเชื้อ *C. perfringens* type A, B, C และ D ที่แยกได้จากโค แกะ สุกร และคน ตรวจไม่พบยีนที่ควบคุมการสร้าง NetB ผลการศึกษาดังกล่าวมีความแตกต่างในรายละเอียดบางอย่างกับรายงานของ Martin and Smyth ในปีค.ศ. 2009 [13] ที่ทำการตรวจวิเคราะห์เชื้อ *C. perfringens* type A ที่แยกได้จากไก่และโคในสหรัฐอเมริกา ผลการศึกษาพบว่าเชื้อ *C. perfringens* ที่แยกได้จำนวน 104 สายพันธุ์ ตรวจพบยีนที่ควบคุมการสร้าง NetB จำนวน 15 สายพันธุ์ (14.4%) ซึ่ง *C. perfringens* จำนวน 1 สายพันธุ์ ที่ตรวจพบยีนที่ควบคุมการสร้าง NetB นั้น เป็นเชื้อที่แยกได้จากโค ส่วนอีก 14 สายพันธุ์ นั้น แยกได้จากไก่ โดยในจำนวนนี้มีเพียง 7 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากไก่ที่เป็นโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ายีนที่ควบคุมการสร้าง

NetB มีการปรากฏใน *C. perfringens* type A ที่แยกได้จากสัตว์ชนิดอื่นนอกจากไก่ รวมทั้งยีนดังกล่าว ยังมีการปรากฏในเชื้อ *C. perfringens* type A ทั้งในไก่ที่เป็นโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายและไก่ปกติ ในปีค.ศ. 2010 Abildgaard et al. [14] ได้ทำการตรวจหายีนที่ควบคุมการสร้าง NetB จากเชื้อ *C. perfringens* type A ที่แยกได้จากไก่ พบว่ามีอัตราการปรากฏของยีนที่ควบคุมการสร้าง NetB ร้อยละ 61 และ 52 ในเชื้อ *C. perfringens* type A ที่แยกได้จากไก่ปกติและไก่ที่เป็นโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายตามลำดับ อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ความสามารถของเชื้อดังกล่าวในการสร้าง NetB ในห้องปฏิบัติการแล้วพบว่ามีเพียงร้อยละ 29 ของเชื้อที่แยกได้จากไก่ปกติมีความสามารถในการสร้าง NetB ได้ในห้องปฏิบัติการ ในขณะที่ร้อยละ 93 ของเชื้อที่แยกได้จากไก่ที่เป็นโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายมีความสามารถในการสร้าง NetB ได้ในห้องปฏิบัติการ สำหรับอัตราการปรากฏของยีนที่ควบคุมการสร้าง NetB มีร้อยละของการพบในเชื้อ *C. perfringens* type A ที่แยกได้จากไก่ที่เป็นโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย มากกว่าเชื้อที่แยกได้จากไก่ปกตินั้นสอดคล้องกับการศึกษาของ Keyburn et al. ในปีค.ศ. 2010 [15] ซึ่งทำการตรวจหายีนที่ควบคุมการสร้าง NetB จากเชื้อ *C. perfringens* type A จำนวน 99 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากไก่ในประเทศออสเตรเลีย เบลเยียม เดนมาร์ก และแคนาดา ผลการศึกษาพบว่าอัตราการปรากฏของยีนที่ควบคุมการสร้าง NetB ร้อยละ 71 และ 4 ในเชื้อ *C. perfringens* type A ที่แยกได้จากไก่ที่เป็นโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายและไก่ปกติตามลำดับ

บทบาทของชีวพิษ NetB ในการทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย

ความสามารถในการทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย ของ NetB นั้นยืนยันได้จากการทดลองของ Keyburn et al. ในปีค.ศ. 2008 [11] ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีนที่ควบคุมการสร้าง NetB ของเชื้อ *C. perfringens* ซึ่งทำให้เชื่อดังกล่าวจะไม่สามารถสร้าง NetB ได้ จากนั้นทำการป้อนเชื่อดังกล่าวให้ไก่เนื้อพันธุ์ Ross 308 พบว่าไก่ที่ได้รับเชื้อที่ถูกทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของยีนที่ควบคุมการสร้าง NetB ไม่มีรอยโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย ต่างจากเชื้อปกติที่สามารถทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายได้ สอดคล้องกับการทดสอบความสามารถในการก่อโรคของเชื้อ *C. perfringens* ที่มียีนที่ควบคุมการสร้าง NetB ในไก่เนื้อสายพันธุ์ Ross 308 ในห้องทดลองของ Keyburn et al. ในปี ค.ศ. 2010 [15] ซึ่งมีขั้นตอนการกระตุ้นให้เกิดโรคโดยการให้อาหารที่มีระดับโปรตีนร้อยละ 20 ตั้งแต่ไก่อายุ 1 วัน เป็นระยะเวลา 13 วัน จนกระทั่งไก่อายุได้ 14 วัน ก็ให้อาหารที่มีส่วนผสมของปลาป่นร้อยละ 50 จากนั้นเมื่อไก่อายุ 20 และ 21 วัน ทำการป้อนเชื้อ *C. perfringens* ขนาด 10^9 ถึง 10^{10} colony forming unit (CFU) ผลการศึกษาพบว่าเชื้อ *C. perfringens* ทั้ง 11 สายพันธุ์ที่มียีนที่ควบคุมการสร้าง NetB ทำให้ไก่ที่ได้รับเชื้อมีรอยโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย ส่วนไก่ที่ได้รับเชื้อ *C. perfringens* ทั้ง 7 สายพันธุ์ที่ไม่มียีนที่ควบคุมการสร้าง NetB ไม่พบหรือมีการเกิดรอยโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย เพียงเล็กน้อยเท่านั้น เช่นเดียวกับผลการศึกษาของ Smyth and Martin ในปีค.ศ.

2010 [16] ที่ทำการศึกษาศามารถในการทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายในไก่ของเชื้อ *C. perfringens* ที่มียีนที่ควบคุมการสร้าง NetB โดยพบว่าเชื้อ *C. perfringens* ทั้ง 5 สายพันธุ์ที่มียีนที่ควบคุมการสร้าง NetB และเป็นเชื้อที่แยกได้จากไก่ที่เป็นโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายสามารถทำให้เกิดรอยโรคในไก่ทดลองได้ รวมทั้งเชื้อ *C. perfringens* จำนวน 1 สายพันธุ์ที่มียีนที่ควบคุมการสร้าง NetB ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากไก่ปกติและเชื้อ *C. perfringens* จำนวน 1 สายพันธุ์ที่มียีนที่ควบคุมการสร้าง NetB ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากโค ก็สามารถทำให้เกิดรอยโรคในไก่ทดลองได้เช่นกัน ส่วนเชื้อ *C. perfringens* จำนวน 5 สายพันธุ์ที่ไม่มียีนที่ควบคุมการสร้าง NetB นั้นไม่สามารถทำให้เกิดรอยโรคในไก่ทดลอง

วิจารณ์และสรุป

การค้นพบชีวพิษ NetB ที่เกิดจากเชื้อ *C. perfringens* ได้ช่วยให้มีการศึกษาและสร้างองค์ความรู้เพื่อให้มีความเข้าใจเกี่ยวกับการเกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายในไก่มากขึ้น ที่สำคัญผู้ค้นพบได้บ่งชี้ว่า NetB นั้นเป็นปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายในไก่ นอกจากนี้ยังพบว่าจะตรวจพบยีนที่ควบคุมการสร้าง NetB ได้เฉพาะจากเชื้อ *C. perfringens* ที่แยกได้จากไก่ที่เป็นโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายเท่านั้น [11] แต่ในการศึกษาต่อมา พบว่าสามารถตรวจพบการปรากฏของยีนที่ควบคุมการสร้าง NetB ในเชื้อ *C. perfringens* ได้ทั้งเชื้อที่แยกได้จากไก่ปกติและเชื้อที่แยกได้จากไก่ที่ป่วยเป็นโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตาย รวมทั้งยังพบว่าในเชื้อ *C. perfringens* บางสายพันธุ์ที่แยกได้จากไก่ที่ป่วยเป็นโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายนั้นไม่มีการปรากฏของยีนที่ควบคุมการสร้าง NetB [13, 14, 15] แสดงให้เห็นว่าการเกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายในไก่อาจเกิดจากปัจจัยอื่นๆ ของเชื้อ *C. perfringens* ได้อีกด้วย ซึ่งสาเหตุดังกล่าวเกิดจากความหลากหลายทางสายพันธุ์ของเชื้อ *C. perfringens* และเชื้อ *C. perfringens* แต่ละสายพันธุ์อาจสร้างชีวพิษที่ทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายได้แตกต่างกัน [17] ส่วนการตรวจพบยีนที่ควบคุมการสร้าง NetB ในเชื้อ *C. perfringens* ที่แยกได้จากไก่ปกติ นั้น อาจเกิดจากความสามารถในการสร้างชีวพิษของเชื้อแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกัน ซึ่งบางสายพันธุ์อาจสร้างชีวพิษได้ไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดโรค [16] รวมทั้งการทำให้เกิดรอยโรคที่รุนแรงนั้นอาจจะมีปัจจัยที่ส่งเสริมให้ความรุนแรงของชีวพิษเพิ่มขึ้น [14] นอกจากนี้ การศึกษาพยาธิกำเนิดของการเกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายในไก่โดย Olkowski et al. ในปี ค.ศ. 2008 [18] พบว่าการตายของเซลล์เยื่อบุลำไส้จะเริ่มพบบริเวณด้านข้างและด้านล่างของเซลล์ ในขณะที่ด้านบนของเซลล์จะยังปกติ แม้ว่าจะเข้าสู่ระยะที่มีการตายอย่างมากของเซลล์แล้วก็ตาม แสดงให้เห็นว่าการตายของเซลล์เยื่อบุลำไส้เป็นผลที่เกิดจากการถูกทำลายของชั้น lamina propria, extracellular matrix และ intercellular junction โดยมีความเกี่ยวข้องกับชีวพิษหลายชนิดที่สร้างจาก *C. perfringens* และมีคุณสมบัติในการทำลายคอลลาเจนได้ดี ดังนั้นการตายของเซลล์เยื่อบุลำไส้ในระยะเริ่ม

แรกของไก่ที่เป็นโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายจึงมีความเกี่ยวข้องกับชีวพิษที่มีความสามารถในการทำลายโปรตีน จากข้อมูลดังกล่าวข้างต้นแสดงให้เห็นว่า NetB เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายในไก่ อย่างไรก็ตามอาจยังมีปัจจัยอื่นๆ ที่สร้างจากเชื้อ *C. perfringens* ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดโรคลำไส้อักเสบแบบเนื้อตายที่จะต้องมีการศึกษาต่อไปอีกในอนาคต

เอกสารอ้างอิง

1. Cooper KK, Songer JG. Necrotic enteritis in chickens: a paradigm of enteric infection by *Clostridium perfringens* type A. *Anaerobe*. 2009;15:55-66.
2. Hermans PG, Morgan KL. Prevalence and associated risk factors of necrotic enteritis on broiler farms in the United Kingdom; a cross-sectional survey. *Avian Pathol*. 2007;36:43-51.
3. Wu SB, Rodgers N, Choct M. Optimized Necrotic Enteritis Model Producing Clinical and Subclinical Infection of *Clostridium perfringens* in Broiler Chickens. *Avian Dis*. 2010; 54:1058-1065.
4. Helmboldt CF, Bryant ES. The pathology of necrotic enteritis in domestic fowl. *Avian Dis*. 1971; 15:775-780.
5. Wages DP, Opengart K. Necrotic enteritis. In: Saif YM, Barnes HJ, Glisson JR, Fadly AM, McDougal LR, Swayne DE, editors. *Diseases of Poultry*. 11th ed. Iowa: Iowa State Press. 2003. p. 781-785.
6. Al-Sheikhly F, Truscott RB. The pathology of necrotic enteritis of chickens following infusion of crude toxins of *Clostridium perfringens* into the duodenum. *Avian Dis*. 1977;21:241-255.
7. Fukata T, Hadate Y, Baba E, Uemura T, Arakawa A. Influence of *Clostridium perfringens* and its toxin in germ-free chickens. *Res. Vet. Sci*. 1988;44:68-70.
8. Gholamiandekhordi AR, Ducatelle R, Heyndrickx M, Haesebrouck F, van Immerseel F. Molecular and phenotypical characterization of *Clostridium perfringens* isolates from poultry flocks with different disease status. *Vet Microbiol*. 2006;113:143-152.
9. Wilkie DC, Van Kessel AG, Dumonceaux TJ, Drew MD. The effect of hen-egg antibodies on *Clostridium perfringens* colonization in the gastrointestinal tract of broiler chickens. *Prev Vet Med*. 2006;74:279-292.
10. Keyburn AL, Sheedy SA, Ford ME, Williamson MM, Award MM, Rood JI, et al. Alpha-toxin of *Clostridium perfringens* is not an essential virulence factor in necrotic enteritis in chickens. *Infect Immun*. 2006;74:6496-6500.
11. Keyburn AL, Boyce JD, Vaz P, Bannam TL, Ford ME, Parker D, et al. NetB, a new toxin that is associated with avian necrotic enteritis caused by *Clostridium perfringens*. *PLoS Pathog*. 2008;4:e26.
12. Keyburn AL, Bannam TL, Moore RJ, Rood JI. NetB, a pore-forming toxin from necrotic enteritis strains of *Clostridium perfringens*. *Toxins*. 2010;2:1913-1927.
13. Martin TG, Smyth JA. Prevalence of netB among some clinical isolates of *Clostridium perfringens* from animals in the United States. *Vet Microbiol*. 2009;136:202-205.
14. Abildgaard L, Sondergaard TE, Engberg RM, Schramm A, Højberg O. In vitro production of necrotic enteritis toxin B, NetB, by netB-positive and netB-negative *Clostridium perfringens* originating from healthy and diseased broiler chickens. *Vet Microbiol*. 2010;144:231-235.
15. Keyburn AL, Yan XX, Bannam TL, van Immerseel F, Rood JI, et al. Association between avian necrotic

- enteritis and *Clostridium perfringens* strains expressing NetB toxin. *Vet Res.* 2010;4:21.
16. Smyth JA, Martin TG. Disease producing capability of *netB* positive isolates of *C. perfringens* recovered from normal chickens and a cow, and *netB* positive and negative isolates from chickens with necrotic enteritis. *Vet Microbiol.* 2010;146:76-84.
 17. Cooper KK, Theoret JR, Stewart BA, Trinh HT, Glock RD, Songer JG. Virulence for chickens of *Clostridium perfringens* isolated from poultry and other sources. *Anaerobe.* 2010;16:289-292.
 18. Olkowski AA, Wojnarowicz C, Chirino-Trejo M, Laarveld B, Sawicki G. Sub-clinical necrotic enteritis in broiler chickens: novel etiological consideration based on ultra-structural and molecular changes in the intestinal tissue. *Res Vet Sci.* 2008;85:543-553.