การวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอสเพื่อการควบคุมและป้องกันโรคด้วยวัคซีนในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย

นางสาวธรรมรัฐ หรพร้อม

การศึกษาค้นคว้าอิสระนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาเกษตรศาสตรมหาบัณฑิต
แขนงวิชาการจัดการการเกษตร สาขาวิชาเกษตรศาสตร์และสหกรณ์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช
พ.ศ. 2556

Genetic Analysis of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus for Disease Prevention and Control by Vaccine in Lower Northern Region of Thailand

Miss Thammarath Horaprom

An Independent Study Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for
the Degree of Master of Agriculture in Agricultural Resources Management
School of Agriculture and Cooperatives
Sukhothai Thammathirat Open University
2013

หัวข้อการศึกษาค้นคว้าอิสระ	การวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอสเพื่อการควบคุมและป้องกันโรคด้วยวัคซีนในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย
ชื่อและนามสกุล	นางสาวธรรมรัฐ หรพร้อม
แขนงวิชา	การจัดการการเกษตร
สาขาวิชา	เกษตรศาสตร์และสหกรณ์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตติมา กันตนามัลลกุล

การศึกษาค้นคว้าอิสระนี้ ได้รับความเห็นชอบให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรระดับปริญญาโท เมื่อวันที่ 19 พฤษภาคม 2557

คณะกรรมการสอบการศึกษาค้นคว้าอิสระ

.....ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตติมา กันตนามัลลกุล)

.....กรรมการ
(อาจารย์ ดร. นายสัตวแพทย์ศิษฎ์ เปรมัษเฐียร)

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร. อัจฉรา จิตตลดากร)
ประธานกรรมการประจำสาขาวิชาเกษตรศาสตร์และสหกรณ์

ชื่อการศึกษาค้นคว้าอิสระ การวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอสเพื่อการควบคุมและป้องกันโรคด้วยวัคซีนในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย

ผู้ศึกษา นางสาวธรรมรัฐ หรพร้อม **รหัสนักศึกษา** 2559002635 **ปริญญา** เกษตรศาสตรมหาบัณฑิต (การจัดการทรัพยากรเกษตร) **อาจารย์ที่ปรึกษา** ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตติมา กันตนามัลลกุล

ปีการศึกษา 2556

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา 1) ข้อมูลพื้นฐานของซากสุกรและฟาร์มสุกร 2) ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส และ 3) แนวทางการควบคุมและป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสด้วยวัคซีนในเขตภาคเหนือตอนล่าง

ประชากรในการศึกษา คือ ซากสุกรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจหาสารพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอส โดยศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง จำนวน 126 ตัวอย่าง กลุ่มตัวอย่าง คือ ซากสุกรจำนวน 22 ตัวอย่าง โดยการเลือกตัวอย่างแบบเจาะจง เครื่องมือการวิจัย คือ แบบฟอร์มรับตัวอย่างเพื่อการชันสูตรโรค และผลการตรวจหาลำดับสารพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอส วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนาและการทดสอบไคสแควร์

ผลการศึกษาพบว่า 1) ซากสุกรที่มีปัญหาโรคพีอาร์อาร์เอสส่วนใหญ่มีอายุ 4 - 6 สัปดาห์ พันธุ์ลูกผสม ทำวัคซีนโรคอหิวาต์สุกร เลี้ยงในฟาร์มสุกรขนาดเล็กมีพ่อแม่พันธุ์ เลี้ยงใน โรงเรือนพื้นปูน และใช้อาหารสำเร็จรูปจากบริษัท 2) พื้นที่ภาคเหนือตอนล่างพบไวรัสพีอาร์อาร์เอส สายพันธุ์ยุโรปและสายพันธุ์อเมริกา โดยมีสัดส่วนของการตรวจพบไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) 3) การควบคุมและป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสด้วยวัคซีน คือ การให้ความรู้เกี่ยวกับโรคพีอาร์อาร์เอส การตรวจยืนยันสถานภาพของโรคในฟาร์ม และการเลือกใช้วัคซีนตรงกับสายพันธุ์ไวรัสที่ก่อโรค

คำสำคัญ ไวรัสพีอาร์อาร์เอส ลักษณะทางพันธุกรรม วัคซีน

Independent Study title: Genetic Analysis of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus for Disease Prevention and Control by Vaccine in Lower Northern Region of Thailand
Author: Miss Thammarath Horaprom; **ID:** 2559002635;
Degree: Master of Agriculture (Agricultural Resources Management);
Independent Study advisor: Dr. Chittima Kantanamalakul, Assistant Professor;
Academic year: 2013

Abstract

This research aimed to study 1) basic information of pig carcasses and pig farms, 2) genetic characteristics of PRRSV, and 3) a guideline for PRRS prevention and control by vaccination in the lower northern region.

The population was 126 PRRSV positive pig carcasses confirmed by the Veterinary Research and Development Center. A sample size of 22 PRRSV positive pig carcasses was chosen through the purposive sampling method. Data collection tools were the laboratory post mortem examination registration forms and PRRSV DNA sequencing for phylogenetic analysis. The statistics for analysis were descriptive statistics and Chi-square test.

The results showed that 1) most of carcasses were hybrid piglets with aged 4-6 weeks that had been vaccinated against swine fever. Most of the farms were small-scale pig farms with breeding pigs on site. The pigs were raised in concrete floored enclosures and fed commercial pig feed. 2) There was no different in the proportion of occurrence between the EU strain and the US strain of PRRS virus in the lower northern region ($p>0.05$). 3) Guidelines for PRRS prevention and control by vaccination were to provide knowledge of PRRS to farmers, to confirm of the status of the disease in farms, and to select a vaccine to match the occurring endemic strain of virus.

Keywords: PRRSV, Genetic characteristics, Vaccine

กิตติกรรมประกาศ

การทำการศึกษาค้นคว้าอิสระฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาเป็นอย่างยิ่งจาก ดร. นายสัตวแพทย์ศิษฎ์ เปรมัษเฐียร และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จิตติมา กันตนามัลลกุล สาขาวิชาเกษตรศาสตร์และสหกรณ์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ที่ได้ให้ความกรุณาให้คำแนะนำและติดตามการทำการศึกษาค้นคว้าอิสระครั้งนี้อย่างใกล้ชิดตลอดมา นับตั้งแต่เริ่มต้นจนกระทั่งสำเร็จเรียบร้อยสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณนายสัตวแพทย์กิตติ รักสิการ สำนักงานปศุสัตว์จังหวัดกำแพงเพชร กรมปศุสัตว์ ที่เอื้อเฟื้อข้อมูลเพื่อใช้ในการวิเคราะห์การศึกษา เกษตรกรทุกท่านที่สละเวลาในการสัมภาษณ์ เจ้าหน้าที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่างทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือด้านข้อมูลการตรวจวินิจฉัย

นอกจากนี้ ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคณาจารย์สาขาวิชาเกษตรศาสตร์และสหกรณ์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช เพื่อนนักศึกษาและผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้อง

ธรรมรัฐ หรพร้อม

พฤษภาคม 2557

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ฌ
สารบัญภาพ ..... ญ
บทที่ 1 บทนำ 1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
วัตถุประสงค์การวิจัย 3
กรอบแนวคิดการวิจัย 3
ขอบเขตของการวิจัย 4
ข้อจำกัดในการวิจัย 4
นิยามศัพท์เฉพาะ 5
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 6
บทที่ 2 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 7
โรคพีอาร์อาร์เอส 7
ความรู้เกี่ยวกับลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอส 11
ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับวัคซีนและการสร้างภูมิคุ้มกันในสัตว์ 12
วัคซีนโรคพีอาร์อาร์เอส 17
การควบคุมและป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอส 22
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 27
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย 29
ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง 29
เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย 31
การเก็บรวบรวมข้อมูล 32
การวิเคราะห์ข้อมูล 33

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูล 34
ข้อมูลพื้นฐานของซากสุกรและฟาร์มสุกร 34
ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส 38
แนวทางการควบคุมและป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสด้วยวัคซีนในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง 40
บทที่ 5 สรุปการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ 42
สรุปการวิจัย 42
อภิปรายผล 44
ข้อเสนอแนะ 46
บรรณานุกรม 47
ภาคผนวก 52
ก แบบฟอร์มรับตัวอย่างเพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการกลุ่มชันสูตรโรคสัตว์ 53
ข ขั้นตอนและวิธีการในการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ 55
ค เครื่องมือในการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ 57
ประวัติผู้ศึกษา 59

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 ข้อแตกต่างของวัคซีนชนิดเชื้อเป็นและชนิดเชื้อตาย 15

ตารางที่ 2.2 คำแนะนำการฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสในเชิงพาณิชย์ชนิด modified-live virus vaccines 18

ตารางที่ 2.3 คำแนะนำการฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสในเชิงพาณิชย์ชนิด killed virus vaccines 20

ตารางที่ 2.4 รายการวัคซีนพีอาร์อาร์เอสในเชิงพาณิชย์ที่มีใช้ในประเทศไทย 21

ตารางที่ 2.5 การป้องกันและควบคุมโรค PRRS 25

ตารางที่ 3.1 ตัวอย่างพีอาร์อาร์เอสพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างที่ใช้ในการศึกษา 30

ตารางที่ 3.2 เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสอ้างอิงของยีน nucleocapsid protein (N gene) ในการวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรม กับเชื้อที่พบในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง 32

ตารางที่ 4.1 ข้อมูลพื้นฐานของซากสุกรตัวอย่างที่ทำการศึกษา 35

ตารางที่ 4.2 ข้อมูลพื้นฐานของฟาร์มสุกรที่ส่งตรวจ 36

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2.1 สาเหตุหลักของความล้มเหลวในการให้วัคซีน (vaccine failure) 17
ภาพที่ 2.2 ลักษณะการติดเชื้อแบบแฝงติดทนในฝูงสุกร 24
ภาพที่ 4.1 ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน Nucleocapsid protein (N gene) ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง 39
ภาพที่ 4.2 สายพันธุ์ไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่ตรวจพบในแต่ละจังหวัดจากตัวอย่างการศึกษา 40

บทที่ 1
บทนำ

1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคพีอาร์อาร์เอส หรือ Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) เป็นกลุ่มอาการของโรคที่มีลักษณะเด่นในการสร้างความเสียหายในสุกร 2 ระบบ คือ ระบบการสืบพันธุ์และระบบการหายใจของโรคในระบบสืบพันธุ์และระบบ ทางเดินหายใจในสุกร โรคพีอาร์อาร์เอสมีการระบาดครั้งแรกที่ประเทศสหรัฐอเมริกาในช่วงประมาณ พ.ศ. 2530 (รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช 2548; Albina, 1997) โดยพบการแท้งลูกในแม่สุกรท้องระยะท้าย และการเพิ่มขึ้นของจำนวนลูกกรอก ลูกสุกรตายแรกคลอด และลูกสุกรอ่อนแอร่วมกับการแสดงอาการผิดปกติของระบบทางเดินหายใจทั้งในแม่และลูกสุกร ในทวีปเอเชียพบการระบาดครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่นใน พ.ศ. 2531 (รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช 2548) โรคพีอาร์อาร์เอสเข้ามาในประเทศไทยก่อน พ.ศ. 2534 โดยมีรายงาน ทางซีรั่มวิทยาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532 (สุดารัตน์ ดำรงวัฒนโภคิน 2539) ใน พ.ศ. 2534 ไวรัสพีอาร์อาร์เอส ถูกแยกเชื้อได้ครั้งแรกที่ประเทศเนเธอร์แลนด์ และตั้งชื่อไวรัสว่า Lelystad virus ซึ่งเป็นไวรัสต้นแบบของ genotype 1 หลังจากนั้นก็มีรายงานการแยกเชื้อได้ในประเทศสหรัฐอเมริกาและให้ชื่อว่า Swine infertility and respiratory syndrome virus (SIRS, BIAH-001) ต่อมาได้กำหนดชื่อเป็น ATCC VR-2332 ซึ่งเป็นไวรัสต้นแบบของ genotype 2 ส่วนชื่อพีอาร์อาร์เอส (Porcine reproductive and respiratory syndrome, PRRS) เริ่มมีการการใช้ใน พ.ศ. 2534 และใน พ.ศ. 2535 องค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ (Office International des Epizooties, OIE) ได้กำหนดให้โรคพีอาร์อาร์เอสอยู่ใน List B diseases (รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช 2548) นอกจากนี้โรคพีอาร์อาร์เอสยังเป็นโรคระบาดสัตว์ของประเทศไทย ตามพระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์ พ.ศ. 2499 ว่าด้วยโรคระบาดสัตว์เพิ่มเติม พ.ศ. 2554 โรคพีอาร์อาร์เอสมีสาเหตุจากการติดเชื้อไวรัสในสกุล *Arterivirus* ซึ่งอยู่ในวงศ์ *Arteriviridae* เป็นอาร์เอ็นเอไวรัสแบบสายเดี่ยว (single stranded RNA virus) มีเปลือกหุ้ม และมีขนาดเล็กเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 50 - 70 นาโนเมตร (สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ 2549; กิจจา อุไรรงค์ 2555; Zimmerman and others, 2006) ไวรัสพีอาร์อาร์เอสแบ่งตามลักษณะของพันธุกรรมเป็น 2 genotypes คือ European genotype (Type 1) และ North American genotype (Type 2) ซึ่งทั้ง 2 genotypes มีความแตกต่างกันอย่างมาก โดยมีส่วนนิวคลีโอไทด์ที่เหมือนกันประมาณ 60% แต่

ลักษณะทางพันธุกรรมในแต่ละ genotype ก็มีความแปรผันสูงด้วยเช่นกัน ไวรัสมีขนาดความยาวของจีโนมประมาณ 15 กิโลเบส (kb) และประกอบด้วย 9 open reading frames (ORFs) ได้แก่ ORF1a, ORF1b, ORF2a, ORF2b, ORF3, ORF4, ORF5, ORF6 และ ORF7 (Kedkovid and others, 2010) ในประเทศไทยพบการติดเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสไม่ติดคนหรือติดเซลล์ที่มีกำเนิดจากคน ทำให้โรคพีอาร์อาร์เอสไม่มีผลทางด้านสาธารณสุข โดยสุกรเลี้ยงและสุกรป่าเป็นสัตว์ที่ไวรับ (susceptible) ต่อการเป็นโรค การติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสจะมีผลกระตุ้นให้เกิดการสร้างความภูมิคุ้มกัน แต่เกิดขึ้นได้ค่อนข้างช้าเมื่อเทียบกับการติดเชื้อไวรัสชนิดอื่น ๆ ในสุกร พบว่าวัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็น (attenuated vaccine) เท่านั้นถึงจะกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันโรคได้และมีประสิทธิภาพในการลดความรุนแรงของโรค และระยะเวลาของการติดเชื้อในกระแสเลือด การขับเชื้อของสัตว์ที่ติดเชื้อ รวมถึงความถี่ของการติดเชื้อไวรัสต่างสายพันธุ์ ถ้าเป็นวัคซีนเชื้อตาย (inactivated vaccine) หรือซับยูนิตวัคซีน (subunit vaccine) จะไม่มีความสามารถในการกระตุ้นให้เกิดภูมิคุ้มกันที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคได้ (กิจจา อุไรรงค์ 2555; Zimmerman and others, 2006)

โรคพีอาร์อาร์เอส (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome; PRRS) เป็นโรคติดเชื้อไวรัสที่สำคัญในสุกร เป็นหนึ่งในโรคสำคัญทางเศรษฐกิจของการผลิตสุกร โรคพีอาร์อาร์เอสส่งผลกระทบต่อการเลี้ยงสุกร จากการสร้างความเสียหายแก่สุกรทุกกลุ่มอายุก่อให้เกิดความผิดปกติของระบบสืบพันธุ์และระบบทางเดินหายใจ ในปัจจุบันมีการแพร่กระจายไปทั่วโลก รวมทั้งในประเทศไทย ซึ่งมีรายงานทางซีรัมวิทยาของโรคตั้งแต่ พ.ศ. 2532 (สุดารัตน์ ดำรงวัฒนโภคิน 2539) การผลิตสุกรในประเทศไทย มีทั้งระบบการเลี้ยงที่เป็นการผลิตแบบอุตสาหกรรมและระบบการเลี้ยงรายย่อย ในเขตภาคเหนือตอนล่างการเลี้ยงสุกรมีทั้งฟาร์มรายย่อยเลี้ยงสุกรแบบหลังบ้าน ฟาร์มขนาดกลางเลี้ยงเพื่อชำแหละขายในท้องถิ่นจนถึงฟาร์มครบวงจรขนาดใหญ่ที่เลี้ยงสุกรแบบครบวงจรและส่งเข้าโรงงานฆ่าสัตว์เพื่อขายในพื้นที่และจังหวัดใกล้เคียง ในส่วนของฟาร์มขนาดใหญ่มีความได้เปรียบเรื่องการจัดการฟาร์ม แหล่งรับซื้อลูกสุกร การดูแลสุขภาพที่สามารถป้องกันการเกิดโรคในฟาร์มได้ แต่ในฟาร์มสุกรขนาดกลางและฟาร์มรายย่อย ยังขาดการจัดการฟาร์มที่ดีและมักจะรับซื้อลูกสุกรจากหลาย ๆ แหล่งเพื่อมาเลี้ยงขุน อีกทั้งยังขาดความรู้ความเข้าใจที่ถูกต้องเรื่องความสำคัญของการป้องกันโรค ซึ่งปัญหาด้านสุขภาพสุกรอันเกิดจากโรคติดต่อต่าง ๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคพีอาร์อาร์เอสนั้นสามารถพบการเกิดโรคได้ในทุกระบบการเลี้ยง แต่ในระบบการเลี้ยงสุกรของเกษตรกรรายย่อย ซึ่งเลี้ยงโดยไม่มีระบบการป้องกันโรคที่ดีมักจะได้รับผลกระทบจากโรคพีอาร์อาร์เอสเป็นอย่างมาก (ศุภธิดา ภิเศก, ประกิจ ศรีใสย์ และ คมวุฒิ ธรรมสาร์ 2554)

ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างอันประกอบไปด้วยจังหวัดกำแพงเพชร ตาก นครสวรรค์ พิจิตร เพชรบูรณ์ พิษณุโลก สุโขทัย อุตรดิตถ์ และอุทัยธานี มีการตรวจพบการเกิดโรคพีอาร์อาร์เอสเป็นระยะ แต่ใน พ.ศ. 2553 - 2554 มีการตรวจพบโรคในหลายจังหวัดและมีการประกาศเป็นเขตพื้นที่โรคพีอาร์อาร์เอส ระบาดในจังหวัดพิษณุโลกและกำแพงเพชร และจากการรายงานการเกิดโรคพีอาร์อาร์เอสในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างมักเกิดในกลุ่มเกษตรกรรายย่อย ซึ่งส่วนใหญ่มีข้อจำกัดเกี่ยวกับความรู้ในการจัดการป้องกันควบคุมโรค รวมถึงเจ้าหน้าที่จากภาครัฐในพื้นที่ขาดประสบการณ์ในการควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอส เนื่องจากเป็นโรคที่ไม่เคยมีปัญหาการระบาดในพื้นที่มาเป็นระยะเวลานาน อย่างไรก็ตามโรคนี้มีวัคซีนที่ผลิตขึ้นมาเพื่อใช้ในการป้องกันควบคุมโรค แต่จากการที่เชื้อไวรัสมีการพัฒนาตัวอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสวัคซีนจึงมักจะแตกต่างจากสายพันธุ์ที่แยกได้จากเชื้อไวรัสในภาคสนามในปัจจุบัน ซึ่งถือเป็นประเด็นสำคัญในกลยุทธ์การป้องกันโรคโดยการใช้วัคซีน (Zimmerman and others, 2006) รวมถึงการใช้งานยังมีข้อจำกัดในการบริหารการใช้วัคซีน รวมถึงลักษณะการจัดการฟาร์มของเกษตรกรเอง

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

2.1 เพื่อศึกษาข้อมูลพื้นฐานของซากสุกรและฟาร์มสุกร

2.2 เพื่อศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

2.3 เพื่อศึกษาแนวทางการควบคุมและป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสด้วยวัคซีนในเขตภาคเหนือตอนล่าง

3. กรอบแนวคิดการวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อศึกษาแนวทางการควบคุมและป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสด้วยวัคซีนในเขตภาคเหนือตอนล่าง โดยใช้แหล่งข้อมูลปฐมภูมิจากข้อมูลการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่ก่อโรคในสุกรพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง และข้อมูลทุติยภูมิที่เกี่ยวข้องในการจัดการฟาร์มที่ได้จากแบบสัมภาษณ์ในการรับตัวอย่างของศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง เนื่องจากโรคพีอาร์อาร์เอสมีข้อจำกัดในการป้องกันและควบคุมโรค คือ การติดเชื้อหรือการได้รับวัคซีนต่างสายพันธุ์ไม่สามารถให้ความคุ้มโรคข้ามสายพันธุ์ได้ และการใช้วัคซีนไม่ตรงตามชนิดของสายพันธุ์ที่ระบาดเป็นการเร่งให้เชื้อไวรัสเกิดการกลายพันธุ์

4. ขอบเขตของการวิจัย

4.1 รูปแบบการวิจัย การวิจัยเชิงประยุกต์

4.2 พื้นที่ศึกษา คือ พื้นที่ภาคเหนือตอนล่างประกอบด้วยจังหวัดกำแพงเพชร ตาก นครสวรรค์ พิจิตร เพชรบูรณ์ พิษณุโลก สุโขทัย อุตรดิตถ์ และอุทัยธานี ที่ตรวจพบเชื้อพีอาร์อาร์เอสไวรัส ระหว่าง พ.ศ. 2552 - 2555

4.3 ประชากร คือ ซากสุกรจากฟาร์มสุกรในเขตภาคเหนือตอนล่าง ได้แก่ จังหวัดกำแพงเพชร ตาก นครสวรรค์ พิจิตร เพชรบูรณ์ พิษณุโลก สุโขทัย และอุตรดิตถ์ ที่ส่งตรวจชันสูตรโรคและให้ผลบวกต่อการตรวจชันสูตรโรคพีอาร์อาร์เอสด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง จำนวน 126 ตัวอย่าง

4.4 กลุ่มตัวอย่าง คือ ซากสุกรจากฟาร์มสุกรในเขตภาคเหนือตอนล่างที่ให้ผลบวกต่อการตรวจชันสูตรโรคพีอาร์อาร์เอส และตรวจหาลำดับสารพันธุกรรมของไวรัส เพื่อยืนยันสายพันธุ์ไวรัสพีอาร์อาร์เอส (Genetic sequencing และ sequencing data analysis) จำนวน 22 ตัวอย่าง

5. ข้อจำกัดในการวิจัย

5.1 กลุ่มตัวอย่าง ในการศึกษาไม่สามารถนำมาตรวจหาลำดับสารพันธุกรรมของไวรัสเพื่อยืนยันสายพันธุ์ไวรัสพีอาร์อาร์เอส (Genetic sequencing และ sequencing data analysis) ได้ทั้งหมดเนื่องจากข้อจำกัดด้านงบประมาณและระยะเวลาในการวิเคราะห์จึงต้องทำการเลือกตัวอย่างแบบเจาะจง เพื่อครอบคลุมพื้นที่ศึกษาและเหมาะสมกับงบประมาณดำเนินการตรวจหาลำดับสารพันธุกรรม

5.2 ตัวอย่างชิ้นเนื้อบางตัวอย่างที่สุ่มมาแล้ว เสียสภาพจากประสิทธิภาพของตู้เย็น -20 ºC ที่ใช้ในการเก็บรักษาเนื้อเยื่อและปัญหาของกระแสไฟฟ้า ทำให้ต้องเลือกตัวอย่างใหม่ทดแทนซึ่งอาจไม่ครอบคลุมพื้นที่การศึกษาอย่างสมบูรณ์

6. นิยามศัพท์เฉพาะ

6.1 ปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR) คือ กระบวนการทำซ้ำชิ้นส่วนดีเอ็นเอเป้าหมายที่มีปริมาณน้อย ๆ มีลำดับสารพันธุกรรมขนาดสายสั้นๆ ให้มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเป็นสองเท่าของแต่ละรอบการทำปฏิกิริยา เพื่อใช้ในการตรวจสอบทางห้องปฏิบัติการและงานวิจัยทางด้านชีวโมเลกุล

6.2 การตรวจหาลำดับสารพันธุกรรม (Genetic sequencing) คือ กระบวนการในการตรวจสอบลำดับสารพันธุกรรมที่แน่นอนภายในโมเลกุลของดีเอ็นเอได้ลำดับสารพันธุกรรมออกมาเป็นข้อมูลของลำดับเบสนิวคลีโอไทด์ของสิ่งที่ศึกษา อักษรที่ใช้ในลำดับสารพันธุกรรม ได้แก่ A, C, G และ T ซึ่งแทนหน่วยย่อยนิวคลีโอไทด์ของสายดีเอ็นเอ ได้แก่ เบสอะดีนีน (adenine) ไซโตซีน (cytosine) กัวนีน (guanine) และไทมีน (thymine) ตามลำดับ

6.3 จีโนไทป์ (Genotype) คือ ลักษณะหรือรูปแบบของยีนที่ควบคุมลักษณะทางพันธุกรรม

6.4 โออาร์เอฟ (Open reading frame; ORF) คือ ส่วนของลำดับของนิวคลีโอไทด์ของโมเลกุลดีเอ็นเอที่อยู่ระหว่างรหัสพันธุกรรมเริ่มต้น (start codon) และ รหัสหยุดพันธุกรรม (stop codon) บางครั้งเรียก protein coding sequences

6.5 สายพันธุ์ (Strain) คือ สายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตหรือเชื้อโรคในงานวิจัยนี้หมายถึงสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

6.5.1 Homologous strain คือ เชื้อชนิด (species) เดียวกัน และมีสายพันธุ์เดียวกันหรือสายพันธุ์มีความเกี่ยวข้องกันอย่างใกล้ชิด

6.5.2 Heterologous strain คือ เชื้อชนิด (species) เดียวกัน แต่ต่างสายพันธุ์กัน

6.5.3 Vaccine strain คือ สายพันธุ์ของเชื้อจุลชีพที่เพาะเลี้ยงขึ้นมาเพื่อนำมาใช้ในการผลิตวัคซีน

6.5.4 Field strain คือ สายพันธุ์ของเชื้อจุลชีพที่ก่อให้เกิดโรคหรือภาวะการติดเชื้อในภาคสนาม

6.6 วัคซีน (Vaccine) คือ สารหรือแอนติเจนที่ได้จากเชื้อหรือส่วนประกอบของเชื้อที่เมื่อให้เข้าไปในร่างกายแล้วสามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันต่อแอนติเจนนั้นและสามารถช่วยป้องกันการเกิดโรคที่เกิดจากจุลชีพนั้นได้

6.6.1 Autogenous killed vaccine คือ วัคซีนเชื้อตายที่ได้จากการนำเชื้อสายพันธุ์ที่พบในฟาร์มพื้นที่เพาะเลี้ยงให้ได้จำนวนมาก ๆ แล้วทำให้เชื้อตายหรือหมดฤทธิ์ (inactivated) โดยอาจใช้สารเคมีหรือกระบวนการทางวิทยาศาสตร์อื่น ๆ จากนั้นจึงนำเชื้อนั้นมาใช้เป็นวัคซีน

6.6.2 Attenuated vaccine หรือ Modified live vaccine (MLV) คือ วัคซีนเชื้อเป็นได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ โดยผ่านกระบวนการทางห้องปฏิบัติการเพื่อทำให้เชื้ออ่อนกำลังลงไม่ก่อโรคในสัตว์ที่ได้รับวัคซีน แต่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเชื้อก่อโรคได้

7. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

7.1 ผลผลิต (Output)

7.1.1 ทราบลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอสในสุกรในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง

7.1.2 แนวทางในการจัดการป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสโดยการใช้วัคซีนในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง

7.2 ผลลัพธ์ (Outcome)

เจ้าหน้าที่ปศุสัตว์สามารถนำข้อมูลลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอสในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง ประกอบการพิจารณาและให้คำแนะนำแก่เกษตรกรในการนำวัคซีนเข้ามาใช้ควบคุมหรือป้องกันโรคเพื่อให้การใช้วัคซีนเกิดประสิทธิภาพ

7.3 ผลกระทบ (Impact)

7.3.1 เจ้าหน้าที่ปศุสัตว์มีแนวทางควบคุมป้องกันโรคในอนาคต

7.3.2 เกษตรกรมีความรู้ในการควบคุมป้องกันโรค ลดความสูญเสียในฟาร์มสุกร ทำให้มีรายได้เพิ่มขึ้น

บทที่ 2
วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ในการศึกษาค้นคว้าอิสระเรื่อง การวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอส เพื่อการควบคุมและป้องกันโรคด้วยวัคซีนในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย ผู้วิจัยได้รวบรวมวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

1. โรคพีอาร์อาร์เอส
2. ความรู้เกี่ยวกับลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอส
3. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับวัคซีนและการสร้างภูมิคุ้มกันในสัตว์
4. วัคซีนโรคพีอาร์อาร์เอส
5. การควบคุมและป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอส
6. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1. โรคพีอาร์อาร์เอส

1.1 ประวัติและข้อมูลทั่วไปของโรค

โรคพีอาร์อาร์เอส หรือกลุ่มอาการระบบการสืบพันธุ์และระบบการหายใจในสุกร (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome; PRRS) เป็นโรคที่มีลักษณะเด่นในการสร้างความเสียหายในสุกร 2 ระบบ คือ ระบบการสืบพันธุ์และระบบการหายใจ ทำให้เกิดการเจริญพันธุ์ล้มเหลว (reproductive failure) ในแม่สุกร และปอดอักเสบ (pneumonia) ในสุกรทุกช่วงอายุ โรคพีอาร์อาร์เอสจัดเป็นโรคที่มีความสำคัญมากในปัจจุบัน เนื่องจากก่อความเสียหายทางเศรษฐกิจสูงมากต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรในหลายประเทศทั่วโลก นอกจากนี้โรคพีอาร์อาร์เอสยังเป็นโรคระบาดสัตว์ของประเทศไทย ตามพระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์ พ.ศ. 2499 ว่าด้วยโรคระบาดสัตว์เพิ่มเติม พ.ศ. 2554 มีการระบาดครั้งแรกที่ประเทศสหรัฐอเมริกาในช่วงประมาณ พ.ศ. 2530 (Albina, 1997) โดยพบการแท้งลูกในแม่สุกรท้องระยะท้ายและการเพิ่มขึ้นของจำนวนลูกกรอก ลูกสุกรตายแรกคลอด และลูกสุกรอ่อนแอร่วมกับการแสดงอาการผิดปกติของระบบทางเดินหายใจทั้งในแม่และลูกสุกรในทวีปเอเชียพบการระบาดครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่นใน พ.ศ. 2531 และกลุ่มอาการดังกล่าวได้มีการระบาดในทวีปยุโรปเช่นกัน โดยเริ่มพบที่ประเทศเยอรมันใน พ.ศ. 2533 กระทั่ง

พ.ศ. 2534 ไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกแยกเชื้อได้ครั้งแรกที่ประเทศเนเธอร์แลนด์ และตั้งชื่อไวรัสว่า Lelystad virus หลังจากนั้นไม่นานก็มีรายงานการแยกเชื้อได้ในประเทศสหรัฐอเมริกาและให้ชื่อว่า Swine infertility and respiratory syndrome virus (SIRS, BIAH-001) ซึ่งต่อมาได้กำหนดชื่อเป็น ATCC VR-2332 โดย Lelystad virus เป็น Prototype ของเชื้อที่แยกได้ในทวีปยุโรป และ VR-2332 เป็น Prototype ของสายพันธุ์ที่แยกได้จากทวีปอเมริกาเหนือ (Benfield and others, 1999) ซึ่งไวรัสต้นแบบทั้งสองสามารถก่อให้เกิดความล้มเหลวของระบบสืบพันธุ์ และโรคระบบทางเดินหายใจได้ ส่วนชื่อพีอาร์อาร์เอส (Porcine reproductive and respiratory syndrome, PRRS) เริ่มมีการการใช้ใน พ.ศ. 2534 และใน พ.ศ. 2535 องค์การโรคระบาดสัตว์ระหว่างประเทศ (Office International des Epizooties, OIE) ได้กำหนดให้โรคพีอาร์อาร์เอสอยู่ใน List B diseases (รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช 2548) ในประเทศไทยโรคพีอาร์อาร์เอส เข้ามาก่อน พ.ศ. 2534 โดยมีรายงานการตรวจพบทางซีรั่มวิทยาตั้งแต่ พ.ศ. 2532 และมีการแพร่กระจายของเชื้ออย่างกว้างขวางในบริเวณที่มีการเลี้ยงสุกรหนาแน่น (สุดารัตน์ ดำรงวัฒนโภคิน 2539) และมีการแยกเชื้อได้ครั้งแรกเมื่อ พ.ศ. 2539 (Amonsin, Kedkovid and Puranaveja, 2009)

1.2 สาเหตุของโรค

โรคพีอาร์อาร์เอสเป็นโรคที่มีสาเหตุจากไวรัสในสกุล *Arterivirus* ซึ่งอยู่ในวงศ์ *Arteriviridae* ไวรัสพีอาร์อาร์เอสเป็นไวรัสสกุลเดียวกับไวรัสที่ก่อโรคในสัตว์ชนิดอื่น ได้แก่ equine arteritis virus (EAV) และ lactate dehydrogenase-elevating virus (LDV) (Zimmerman and others, 2006) เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสแบ่งได้เป็นสองสายพันธุ์คือ สายพันธุ์ยุโรปและสายพันธุ์อเมริกา

โดยธรรมชาติของไวรัส สภาวะที่เหมาะสมต่อการมีชีวิตของไวรัส คือ สภาวะอากาศเย็นและมีแสงแดดน้อยจึงทำให้ไวรัสชนิดนี้แพร่กระจายและเกิดการระบาดของโรคได้ง่ายในช่วงฤดูหนาว ซึ่งสุกรทุกอายุรวมทั้งสุกรป่าเป็นโฮสต์โดยธรรมชาติ (Albina, 1997) เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสไม่ค่อยคงทน ถูกทำลายได้ง่ายในสภาพแวดล้อมที่ร้อนและแห้ง แต่จะคงอยู่ได้ในระยะหนึ่งในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม โดยทั่วไปเชื้อจะคงอยู่ได้นานหลายเดือนที่อุณหภูมิ -20 ºC หรือหลายปีที่อุณหภูมิ -70 ºC เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสจะคงทนต่อสภาพ pH 6.5-7.5 แต่การก่อการติดเชื้อจะลดลงอย่างรวดเร็วที่ pH ต่ำกว่า 6 และสูงกว่า 7.5 เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสถูกทำลายได้ง่ายด้วยตัวทำละลายไขมัน เช่น chloroform และ ether หรือด้วยสารละลายที่มีสารชะล้าง (detergent) เข้มข้น วิธีการฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพดีมากในการทำลายเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในโรงเรือนคลอดและยานพาหนะ คือ การทำความสะอาด ปล่อยให้แห้ง การใช้ความร้อนช่วยทำให้แห้ง และการใช้ยาฆ่าเชื้อชนิดโฟม (foaming disinfectant) ที่มีส่วนประกอบของ glutaraldehyde และ quaternary ammonium chloride (กิจจา อุไรรงค์ 2555)

1.3 การติดเชื้อและการแพร่กระจายของเชื้อ

เชื้อไวรัสจะถูกขับออกจากร่างกายของสุกรป่วยทางอุจจาระ ปัสสาวะ ลมหายใจ และน้ำเชื้อสามารถติดต่อหรือแพร่ไปยังสุกรตัวอื่น ๆ ได้โดยการกินหรือการสัมผัสโดยตรง เช่น การดม การเลียหรือการผสมพันธุ์ นอกจากนี้ยังสามารถติดต่อผ่านอากาศที่หายใจ หรือผ่านทางวัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือเครื่องใช้ต่าง ๆ ภายในฟาร์มที่ปนเปื้อนเชื้อไวรัส (สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ 2549) แม่สุกรที่ไวรับและติดเชื้อในช่วงตั้งท้องระยะท้ายจะมีการขับเชื้อออกมากับสิ่งคัดหลั่ง (secretion) ของเต้านม ได้แก่ นมน้ำเหลือง (colostrum) และน้ำนม พ่อสุกรติดเชื้อสามารถขับเชื้อออกมาทางน้ำอสุจิ ซึ่งระยะเวลาในการขับเชื้อของพ่อสุกรจะแตกต่างกันในแต่ละตัว พ่อสุกรบางตัวอาจขับเชื้อได้นานถึง 92 วัน ภายหลังการติดเชื้อ นอกจากนี้ยังพบว่าพ่อสุกรอาจมีการขับเชื้อไวรัสวัคซีน (vaccine virus) ออกมากับน้ำอสุจิได้นาน 39 วัน หลังการให้วัคซีนเชื้อเป็น (attenuated vaccine หรือ modified live vaccine, MLV) แต่อย่างไรก็ตาม สุกรที่ผ่านการให้วัคซีนจะมีภูมิคุ้มกันที่ช่วยในการกำจัดและลดการขับเชื้อพีอาร์อาร์เอสที่เกิดจากการติดเชื้อภายหลังได้เชื้อพีอาร์อาร์เอสทำให้เกิดการติดเชื้อคงอยู่นาน (persistent infection) ในลักษณะเรื้อรัง เชื้ออาจคงอยู่ในร่างกายได้นานถึง 100 - 165 วัน ภายหลังการติดเชื้อ การติดเชื้อคงอยู่นานที่เกิดขึ้นกับการติดเชื้อของลูกในท้องและไม่เกี่ยวข้องกับการกลายพันธุ์ของเชื้อ อัตราการกลายพันธุ์ค่อนข้างต่ำในร่างกายสุกรทั้งที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อคงอยู่นาน และกลไกที่ทำให้เชื้อพีอาร์อาร์เอสสามารถคงอยู่ในร่างกายได้เป็นเวลานานทั้งที่มีภูมิคุ้มกันก่อขึ้นเอง (active immunity) ยังไม่ทราบเป็นที่แน่ชัด

สุกรจะไวรับมากต่อการติดเชื้อผ่านทางรอยถลอกหรือบาดแผลที่ผิวหนัง เช่น การตัดหู การตัดหาง การตัดเขี้ยว การสักเบอร์ การฉีดยาหรือฉีดวัคซีน รวมถึงบาดแผลจากสาเหตุอื่น ๆ เช่น การกัดกันช่วงหลังหย่านมและช่วงนำสุกรเข้าเล้าขุน ซึ่งสุกรจะติดเชื้อผ่านจากเลือดและน้ำลายของสุกรที่ผ่านการติดเชื้อมาก่อน โดยเชื้อจะคงอยู่ได้หลายสัปดาห์ในน้ำลายหรือเลือด ความไวรับต่อการติดเชื้อจะลดลง ตามช่วงอายุที่เพิ่มขึ้น แสดงถึงความเป็นไปได้ที่ช่วงอายุ อาจมีความเกี่ยวข้องกับการสร้างภูมิคุ้มกัน

ช่องทางอื่นของการติดเชื้อ ได้แก่ การสัมผัสโดยตรงกับสุกรติดเชื้อโดยการกิน การหายใจ และการผสมพันธุ์ (ติดเชื้อทางโพรงจมูก และช่องคลอด) รวมถึงการสัมผัสเชื้อจากวัสดุสิ่งของที่นำเชื้อได้ (fomite) และจากแมลงนำโรค (insect vector) เช่น ยุง และแมลงวัน เป็นต้น

เชื้อพีอาร์อาร์เอสจะวนเวียนอยู่ในฟาร์มในลักษณะของโรคประจำถิ่น เป็นผลของการติดเชื้อคงอยู่นานในสุกรที่เป็นพาหะ (carrier) ร่วมกับการที่มีสุกรไวรับต่อการติดเชื้อ เกิดขึ้นและหมุนเวียนอยู่ตลอดเวลาในระบบการผลิตของฟาร์ม ได้แก่ สุกรแรกเกิด สุกรอนุบาล และสุกรขุน ซึ่งไม่มีภูมิคุ้มกัน หรือมีภูมิคุ้มกันไม่สมบูรณ์พอ วงจรการติดเชื้อเริ่มจากแม่ไปสู่ลูก ซึ่งอาจเกิดขึ้น

ตั้งแต่อยู่ในท้องหรือภายหลังการคลอด การเลี้ยงร่วมกันทั้งในช่วงอนุบาลและช่วงขุนในระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง โดยเฉพาะในช่วงอนุบาลจะเอื้อต่อการติดเชื้อได้ง่าย เพราะเป็นช่วงที่ภูมิคุ้มกันที่รับมาจากแม่ (maternal immunity) เริ่มลดลง และรับเชื้อจากรุ่นพี่ที่เป็นพาหะที่เลี้ยงอยู่ในโรงเรือนเดียวกัน เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสไม่ติดคนหรือติดเซลล์ที่มีกำเนิดจากคนทำให้โรคพีอาร์อาร์เอสไม่มีผลทางด้านสาธารณสุข โดยสุกรเลี้ยงและสุกรป่าเป็นสัตว์ที่ไวรับ (susceptible) ต่อการเป็นโรค (กิจจา อุไรรงค์ 2555)

1.4 การระบาดของโรคในประเทศไทย

ในประเทศไทยพบการติดเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ กรมปศุสัตว์รายงานการระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอส ซึ่งสร้างความเสียหายให้แก่เกษตรกรรายย่อย โดยใน พ.ศ. 2550 พบการระบาดในจังหวัดขอนแก่น และ พ.ศ. 2553 พบในจังหวัดหนองคายและพิษณุโลก (กิติภัทท์ สุจิต และ เสกสิทธิ์ สิงห์แจ่ม 2553) ในจังหวัดมหาสารคามพบการระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอสในระบบการเลี้ยงของเกษตรกรรายย่อยซึ่งเลี้ยงโดยไม่มีระบบการป้องกันโรคที่ดีมักจะได้รับผลกระทบจากโรคพีอาร์อาร์เอสเป็นอย่างมากจากการสอบสวนโรคทางระบาดวิทยาพบว่า สุกรในพื้นที่จังหวัดมหาสารคามเกิดการระบาดของโรค PRRS ซึ่งมีสาเหตุจากเชื้อ PRRSV US-Strains เกษตรกรที่ได้รับผลกระทบจากการระบาดมากที่สุดคือ เกษตรกรรายย่อย และปัจจัยเสี่ยงของการเกิดโรคน่าจะเกิดจากการใช้พ่อพันธุ์ร่วมกัน และเพื่อเป็นการป้องกันการระบาดในอนาคตควรมีการเพิ่มความรวดเร็วในการรายงานการเกิดโรคอันจะนำมาซึ่งการควบคุมโรคหรือการดำเนินมาตรการต่าง ๆ ที่รวดเร็วและทันท่วงทีเช่นกัน ส่งผลให้ความสูญเสียจากการระบาดของโรคลดลงได้ในที่สุด และควรมีมาตรการในการกำจัดสุกรในฝูงที่มีการติดเชื้อแฝงในร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งพ่อพันธุ์สุกรรวมทั้งเฝ้าระวังโรคในพื้นที่เกิดโรค กำหนดแผนงานในการทดสอบและเฝ้าระวังโรคทางซีรั่มวิทยา ปรับปรุงด้านความปลอดภัยทางชีวภาพของการเลี้ยงสุกร โดยปรับจากหลักเกณฑ์การนำสุกรเข้าเลี้ยงใหม่ในระบบฟาร์มมาตรฐานการเลี้ยงสุกรของกรมปศุสัตว์ และให้ความรู้และคำแนะนำแก่เกษตรกรผู้เลี้ยงสุกรเกี่ยวกับความสำคัญของโรคระบาดและความปลอดภัยทางชีวภาพซึ่งเป็นหนึ่งในหลักการสำคัญที่จะช่วยป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ ได้ (ศุภธิดา ภิเศก, ประกิจ ศรีใสย์ และ คมวุฒิ ธรรมสาร์ 2554) จากการรวบรวมข้อมูลทางระบาดวิทยาของ Albina (1997) หลังจากการระบาดอย่างรุนแรง ในประเทศที่มีการระบาดโรคนี้จะกลายเป็นโรคประจำถิ่น อย่างไรก็ตามในพื้นที่ที่มีความหนาแน่นของสุกรน้อย การแพร่กระจายของโรคจะดำเนินไปอย่างช้า ๆ และการเคลื่อนย้ายของสัตว์ติดเชื้อไม่มีนัยสำคัญต่อการแพร่ระบาด รวมถึง การติดต่อระหว่างฟาร์มสู่ฟาร์มสามารถควบคุมและสามารถรักษาระดับความชุกของการเกิดโรคให้อยู่ในระดับต่ำได้

2. ความรู้เกี่ยวกับลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอส

ลักษณะทางพันธุกรรมพีอาร์อาร์เอส เป็นอาร์เอ็นเอชนิดสายบวกเดี่ยว (Single strand RNA) ขนาดประมาณ 15 กิโลเบส มีเปลือกหุ้ม องค์ประกอบของไวรัสประกอบด้วย 9 Open reading frame (ORFs) ได้แก่ ORF1a, ORF1b, ORF2a, ORF2b, ORF3, ORF4, ORF5, ORF6 และ ORF7 (Kedkovid and others, 2010; Yoon, Song and Lee, 2007) โดย ORF1a, ORF1b มีหน้าที่สร้าง RNA polymerase ของไวรัส ORF 2-5 ทำหน้าที่สร้างโปรตีนโครงสร้าง (Structural proteins) ORF 6 ให้ส่วนโปรตีน Matrix (M) และ ORF7 ให้ส่วนของโปรตีน Nucleocapsid (N) (รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช 2548) จาก ORF7 ของ American strain VR 2385 (ATCC) มีความคล้ายคลึงกับ European Lelystad virus เพียง 58% ซึ่งคาดว่า ORF7 เป็นยีนที่ควบคุมการแสดงออกของ nucleocapsid protein ที่เป็นโปรตีนโครงสร้างหลักของไวรัส (Albina, 1997) และจากการศึกษาของ Yoon and others (2007) พบว่า nucleocapsid (N) protein ของไวรัสส่วนใหญ่เป็น immunogenic protein ที่สามารถเข้ารหัสพันธุกรรมผ่าน ORF7 ซึ่ง ORF7 เป็นเป้าหมายสำคัญสำหรับการตรวจหาไวรัส โดยวิธี PCR และนิวคลีโอโปรตีนเป็นเป้าหมายที่สำคัญสำหรับการตรวจทางภูมิคุ้มกัน โดย วิธี ELISA และ วิธีการอื่น ๆ

เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถจำแนกตามลักษณะทางพันธุกรรมได้เป็น 2 genotype คือ genotype 1 (Lelystad virus; European type; EU strain) หรือ สายเชื้อยุโรป และ genotype 2 (VR2332; North America type; US strain) หรือสายเชื้ออเมริกา ทั้งสองจีโนไทป์จะมีลำดับของนิว-คลีโอไทด์ (nucleotide sequence) ที่แตกต่างกันประมาณ 44% (กิจจา อุไรรงค์ 2555; Kedkovid and others, 2010) ปัจจุบันสายเชื้อทั้งสองชนิดได้แพร่กระจายไปทั่วโลก โดยชนิดที่ 1 เป็นสายเชื้อที่เด่นในยุโรป ขณะที่ชนิดที่ 2 เป็นสายเชื้อที่เด่นในอเมริกาเหนือและเอเชีย (กิจจา อุไรรงค์ 2555)

ในประเทศไทยจากการศึกษาลักษณะของเชื้อไวรัส จากการเพาะแยกเชื้อและการศึกษาทางชีวโมเลกุลของไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ที่พบในประเทศไทยพบว่ามีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับสายพันธุ์อเมริกามากกว่า Lelystad virus (สุดารัตน์ ดำรงวัฒนโภคิน 2539; Damrongwatanapokin, Arsayuth and Kongkrong, 1996) แตกต่างกับข้อมูลของรุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช (2548) ที่กล่าวว่ากลุ่มสายพันธุ์ยุโรปที่แยกได้ในประเทศไทย มีความใกล้เคียงกับเชื้อไวรัสต้นแบบสายพันธุ์ยุโรปร้อยละ 87 - 97.5 ส่วนกลุ่มสายพันธุ์อเมริกาที่แยกได้ในประเทศไทยมีความใกล้เคียงกับไวรัสต้นแบบสายพันธุ์อเมริการ้อยละ 83.7 - 85.2 และกลุ่มสายพันธุ์ยุโรปที่แยกได้ในประเทศไทยกับเชื้อไวรัสวัคซีนกลุ่มสายพันธุ์ยุโรป (Porcillis®, Intervet, The Netherlands) มีความใกล้เคียงกันร้อยละ 99 แต่สอดคล้องกับการศึกษาของ (Thanawongnuewech and others, 2004; Tun, Shi and Wong, 2011)

3. ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับวัคซีนและการสร้างภูมิคุ้มกันในสัตว์

วัคซีน หมายถึง สารหรือแอนติเจนที่ได้จากเชื้อหรือส่วนประกอบของเชื้อที่เมื่อให้เข้าไปในร่างกายแล้วสามารถกระตุ้นให้ร่างกายสร้างภูมิคุ้มกันต่อแอนติเจนนั้นและสามารถช่วยป้องกันการเกิดโรคที่เกิดจากจุลชีพต้นแบบนั้นได้ (protective immunity) ซึ่งอาจเตรียมได้จากตัวจุลชีพเองที่ถูกทำให้หมดฤทธิ์แล้วหรืออ่อนกำลังลง อาจเป็นส่วนประกอบของจุลชีพที่ได้รับการดัดแปลง หรือสังเคราะห์ขึ้นมาใหม่โดยวิธีการทางห้องปฏิบัติการก็ได้ ในปัจจุบันวัคซีนอาจหมายรวมถึงแอนติเจนในกลุ่มฮอร์โมน เช่น gonadotrophin releasing hormone (GnRH) luteinizing hormone (LH) หรือโปรตีนแอนติเจนอื่น ๆ ของร่างกายที่ให้แก่สัตว์หรือมนุษย์เพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่จำเพาะต่อแอนติเจนนั้น โดยหวังผลในการคุมกำเนิดหรือรักษาโรคบางอย่างก็ได้ (สันนิภา สุรทัตต์ 2549) ซึ่งวัคซีนโรคพีอาร์อาร์เอสในประเทศไทย หมายถึง วัคซีนที่ใช้ในการป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสที่มีการขึ้นทะเบียนจากสำนักงานอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุขเท่านั้น (สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย 2554)

3.1 หลักสำคัญของการให้วัคซีน เพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้แก่สัตว์ ได้แก่ การให้วัคซีนแก่ประชากรสัตว์ที่อยู่ในกลุ่มเสี่ยงต่อการเป็นโรคให้ได้มากที่สุด โดยจะต้องพิจารณาถึงความถี่ของการให้วัคซีนที่ไม่น้อยเกินไป และไม่มากเกินความจำเป็น ดังนั้นก่อนการให้วัคซีนจึงต้องคำนึงถึงปัจจัยเหล่านี้

3.1.1 สามารถจำแนกเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคหรือความเจ็บป่วยได้ถูกต้อง ซึ่งปัญหาการเจ็บป่วยของสัตว์ที่เกิดจากสาเหตุที่เป็นปัจจัยร่วมหลายชนิดในเวลาเดียวกันอาจเป็นได้ทั้งการติดเชื้อร่วมกับปัจจัยทางกายภาพและสภาพแวดล้อมอื่น ๆ ที่มีผลกดหรือรบกวนการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ดังนั้นการใช้วัคซีนโรคใดโรคหนึ่งก็อาจไม่ให้ผลในการควบคุมโรคและแก้ปัญหาทางสุขภาพที่พบในสัตว์ได้ นอกจากนี้ความสำคัญของความปลอดภัยทางชีวภาพ (biosecurity) และสภาพแวดล้อมในการจัดการ ยังเป็นปัจจัยสำคัญในกระบวนการจัดการเพื่อป้องกันโรค

3.1.2 ชนิดของภูมิคุ้มกันที่ได้จากการกระตุ้นโดยใช้วัคซีนสามารถป้องกันการติดเชื้อที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคได้หรือไม่

3.1.3 ภูมิคุ้มโรค (protective immunity) ที่เกิดจากการใช้วัคซีนสามารถคุ้มโรคได้นานเพียงใด ในปัจจุบันเราทราบว่าระยะเวลาความคุ้มโรค (duration of immunity; DOI) ที่ได้จากการให้วัคซีนนั้นมีอายุยาวนาน อย่างไรก็ตามกรณีต้องการกระตุ้นการสร้าง maternal derived antibody (MDA) เพื่อให้ส่งผ่านภูมิคุ้มกันถ่ายทอดจากแม่ไปสู่ลูก อาจมีความจำเป็นที่จะต้องให้

วัคซีนซ้ำในแม่สัตว์เพื่อให้มีการสร้างแอนติบอดีเพิ่มสูงขึ้นในขณะที่ให้นมแก่ลูก นอกจากนี้อาจจะต้องวิเคราะห์หาปริมาณของแอนติบอดีในแม่ว่าสามารถคงอยู่ในระดับสูงภายหลังการกระตุ้นด้วยวัคซีนอีกนานเพียงใด

3.1.4 วัคซีนที่ใช้มีผลข้างเคียงให้โรคมีความรุนแรงมากขึ้น หรือมีผลข้างเคียงอื่นหรือไม่ ผลข้างเคียงจากการให้วัคซีนหมายถึงการเกิดปฏิกิริยาอันไม่พึงประสงค์ภายในตัวสัตว์ที่ได้รับวัคซีนที่มากเกินไปจนก่อให้เกิดการเจ็บป่วย หรือภาวะภูมิไวเกิน (hypersensitivity) ซึ่งมักเกิดในสัตว์อายุน้อย และสามารถป้องกันได้โดยการเลือกใช้ชนิดของวัคซีนที่เหมาะสม หลีกเลี่ยงการให้วัคซีนที่มีแอนติเจนหลายชนิดพร้อมกันในเวลาเดียวกัน การชะลอการให้วัคซีนออกไปเพื่อให้สัตว์มีอายุมากขึ้น ร่วมกับการให้ความรู้ด้านการสร้างความปลอดภัยทางชีวภาพแก่เจ้าของสัตว์ จะสามารถช่วยลดโอกาสการเกิดปฏิกิริยาอันไม่พึงประสงค์เหล่านี้ลงได้

3.1.5 สัตว์ที่จะให้วัคซีนมีความพร้อมในการตอบสนองต่อการให้วัคซีนหรือไม่ ความพร้อมในการตอบสนองต่อการให้วัคซีนขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น อายุ ปริมาณของภูมิคุ้มกันที่ได้รับการถ่ายทอดจากแม่ต่อแอนติเจนในวัคซีน สภาพความสมบูรณ์ของสัตว์ ความพร้อมของระบบภูมิคุ้มกัน และการติดเชื้อแทรกซ้อนในระหว่างการให้วัคซีน เป็นต้น

3.2 การสร้างภูมิคุ้มกัน (immunization) สามารถแบ่งได้เป็น 2 วิธี ได้แก่

3.2.1 Passive Immunization หมายถึงการให้ภูมิคุ้มกันจากสัตว์ตัวอื่นเข้าสู่สัตว์อีกตัวหนึ่งโดยตรง แบ่งได้เป็น

1) Artificial passive immunity เป็นการให้ hyperimmune serum โดยตรงแก่สัตว์ที่ยังไม่สามารถสร้างภูมิคุ้มกันได้

2) Natural passive immunity เป็นภูมิคุ้มกันถ่ายทอดที่ลูกสัตว์ได้รับจากแม่ ซึ่งลูกสัตว์จะได้รับ MDA ผ่านทางนมน้ำเหลือง (colostrums) ที่ลูกกินเข้าไปในช่วง 24 - 48 ชั่วโมงแรกเท่านั้น เนื่องจากเป็นช่วงที่ผนังลำไส้ยอมให้มีการดูดซึมแอนติบอดีเข้าไปในกระแสเลือดของลูกได้

3.2.2 Active Immunization หมายถึง การกระตุ้นให้สัตว์สร้างภูมิคุ้มกันขึ้นมาด้วยตนเอง อาจทำได้โดยให้วัคซีนเพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกัน หรือปล่อยให้สัตว์มีการติดเชื้อโดยธรรมชาติ (natural infection) ซึ่งถือเป็นการกระตุ้มสร้าง active immunity ที่ดีที่สุด (แต่อาจจะเสี่ยงเกินไป ถ้าเชื้อโรคนั้นมีความรุนแรงสูง) ในปัจจุบันจึงนิยมเลือกใช้การให้วัคซีนที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้โดยไม่ก่อให้เกิดโรคขึ้นในสัตว์ วัคซีนที่ให้แก่สัตว์แบ่งเป็นประเภทใหญ่ๆ ได้ 2 ประเภท ได้แก่

1) Living organism คือ การนำเชื้อที่ยังมีชีวิตอยู่มาใช้เป็นวัคซีน ที่ผ่านมามีการใช้เชื้อมีชีวิตมาทำวัคซีนในหลายรูปแบบ ได้แก่

(1) Fully virulent organism เป็นการใช้ประโยชน์จากคุณสมบัติในการก่อโรคที่แตกต่างกันของเชื้อโรคเมื่ออยู่ในโฮสต์ต่างชนิดกัน เชื้อที่มีความรุนแรงสูงในสัตว์ชนิดหนึ่งอาจไม่ก่อให้เกิดโรครุนแรงในสัตว์อีกชนิดหนึ่ง จึงสามารถนำมาใช้ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้

(2) Heterologous strain เป็นการนำเชื้อโรคที่เป็นชนิด (species) เดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์กัน (strain) มาใช้เป็นวัคซีน โดยเลือกใช้เชื้อสายพันธุ์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรคมาใช้ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเชื้อสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรครุนแรง

(3) Modified live vaccine (วัคซีนเชื้อเป็น) ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อโดยผ่านกระบวนการทางห้องปฏิบัติการเพื่อทำให้เชื้ออ่อนกำลังลง ทำให้มีความปลอดภัยสูง และไม่ก่อโรคในสัตว์ที่ได้รับวัคซีน แต่ยังสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเชื้อก่อโรคได้ ในปัจจุบัน modified live vaccine ถือเป็นวัคซีนชนิดที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากในทางสัตวแพทย์

2) Non-living vaccine คือวัคซีนที่ทำจากเชื้อหรือส่วนประกอบของเชื้อที่ไม่มีชีวิต สามารถแบ่งย่อได้อีกหลายประเภท ได้แก่

(1) Killed whole organism (วัคซีนเชื้อตาย) หรือ bacterin คือ วัคซีนที่ได้จากการเพาะเชื้อมีชีวิตจำนวนมาก ๆ แล้วทำให้เชื้อตายหรือหมดฤทธิ์ (inactivated) โดยอาจใช้สารเคมีหรือกระบวนการทางวิทยาศาสตร์อื่น ๆ จากนั้นจึงนำเชื้อนั้นมาใช้เป็นวัคซีน ตัวอย่างเช่น วัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าชนิดเชื้อตาย

(2) Purufied antigen เป็นวัคซีนที่ได้จากการสกัดหรือสังเคราะห์โปรตีนส่วนที่เป็น protective antigen และนำมาใช้ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

(3) DNA vaccine เป็นวัคซีนรุ่นใหม่ที่ได้จากการ clone ยีนที่สร้างจากเชื้อโรคมาใส่ไว้ใน plasmid แล้วให้ plasmid ที่มี antigen gene นั้นแก่สัตว์โดยตรง โดยมีวัตถุประสงค์ที่จะให้ plasmid ที่มี antigen gene เข้าไปสร้างแอนติเจนที่สามารถกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันในสัตว์ที่ได้รับ DNA vaccine ได้

ตารางที่ 2.1 ข้อแตกต่างของวัคซีนชนิดเชื้อเป็นและชนิดเชื้อตาย

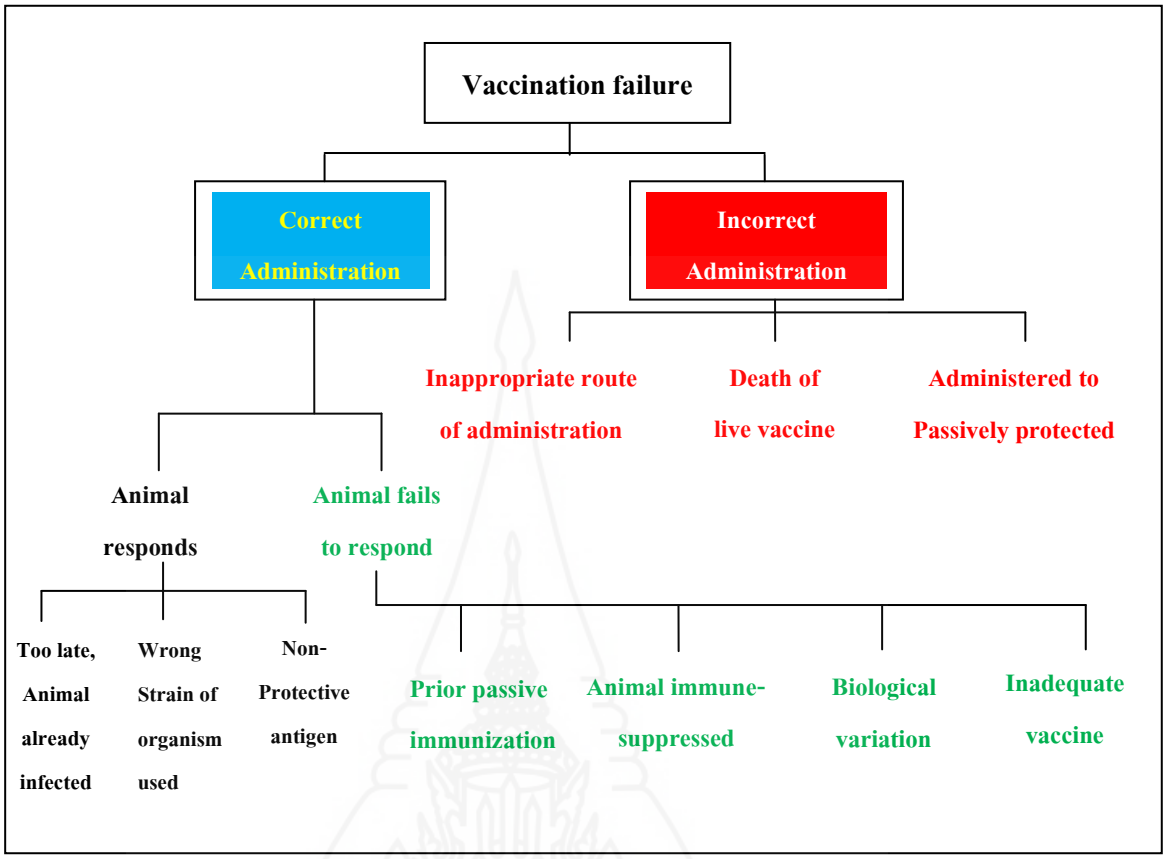
ชนิดวัคซีน	ข้อดี	ข้อเสีย
วัคซีนเชื้อเป็น (Modified live vaccine)	1. สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิด cell-mediated immunity ได้อย่างมีประสิทธิภาพเหนือกว่าวัคซีนเชื้อตาย จึงให้ความคุ้มโรคได้ดีกว่าวัคซีนเชื้อตาย 2. ใช้ปริมาณเชื้อต่อโด๊สที่น้อย 3. เชื้อในวัคซีนที่ให้เข้าไปสามารถกระตุ้นการทำงานของเซลล์กลุ่ม innate ได้ดี 4. สามารกระตุ้นให้ร่างกายสร้าง type I interferon 5. ต้นทุนในการผลิตถูกเนื่องจากไม่จำเป็นต้องเติม adjuvant 6. ลดโอกาสที่จะกระตุ้นภาวะภูมิไวเกิน (hypersensitivity)ซึ่งอาจเกิดจากการใช้ adjuvant หรือ additives	1. มีความยุ่งยากในเรื่องของการเก็บรักษามากกว่าวัคซีนเชื้อตาย เนื่องจากต้องเก็บรักษาในที่มีอุณหภูมิต่ำ 2. มีต้นทุนในการเก็บรักษาโดยเฉพาะในประเทศเขตร้อน 3. มีโอกาสเสี่ยงในการติดเชื้อที่ปนเปื้อนมาในระหว่างการผลิตวัคซีน หรือมีโอกาสขณะที่ให้เข้าไปในตัวสัตว์แล้วเกิดเป็นเชื้อที่สามารถก่อโรครุนแรงได้ใหม่ 4. ก่อให้เกิดปัญหาการเจ็บป่วยอันไม่พึงประสงค์ได้ ในกรณีที่ให้แก่สัตว์ที่มีการทำงานของภูมิคุ้มกันที่ไม่เต็มประสิทธิภาพอยู่แล้วก่อนที่จะได้รับวัคซีน เช่น สัตว์ตั้งท้อง สัตว์ที่อยู่ในสภาวะเครียด หรือติดเชื้ออื่นอยู่แล้ว
วัคซีนเชื้อตาย (Inactivated vaccine)	1. มีความปลอดภัยสูง และมีความเสี่ยงของการเกิดโรคจากการใช้วัคซีนน้อย 2. ลดความเสี่ยงของการเกิดโรคในกรณีที่มีเชื้อชนิดอื่นที่ปนเปื้อนมาในกระบวนการผลิต 3. ส่วนใหญ่สามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิห้องทำให้ง่ายต่อการเก็บรักษา 4. การใช้งานที่ค่อนข้างง่ายและสะดวกกว่าวัคซีนเชื้อเป็น	1. ให้ความคุ้มโรคได้ดีไม่เท่าวัคซีนเชื้อเป็น 2. จำเป็นต้องให้ซ้ำหลายครั้งเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการกระตุ้นความคุ้มโรคทำให้มีโอกาสการเกิดปัญหาภูมิไวเกินได้สูงขึ้น 3. เพิ่มภาระงานและค่าใช้จ่ายให้กับเจ้าของสัตว์ในกรณีที่ต้องให้ซ้ำหลายครั้ง

ที่มา: ดัดแปลงจาก สันนิภา สุรทัตต์ (2549)

3.3 ความล้มเหลวในการให้วัคซีน (vaccine failure)

เมื่อให้วัคซีนไปแล้วไม่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในสัตว์ที่ได้รับวัคซีนได้อย่างมีประสิทธิภาพตามที่คาดหวัง อาจมีสาเหตุมาจากหลายปัจจัย ดังแสดงในแผนภาพที่ 2.1 ในบางกรณีสัตว์อาจได้รับแอนติเจนซึ่งไม่ตรงกับเชื้อที่ระบาด หรือวัคซีนที่ได้จากแหล่งที่มีวิธีการผลิตที่ไม่ได้มาตรฐานจนมีการทำลาย protective epitope ให้เสียหายในระหว่างกระบวนการผลิต หรือมีปริมาณแอนติเจนน้อยเกินไป ปัญหาเหล่านี้อาจพบได้ในวัคซีนที่ผลิตจากโรงงานที่ไม่ได้มาตรฐาน ดังนั้นจึงควรเลือกใช้วัคซีนที่ผลิตจากโรงงานที่มีมาตรฐานที่เชื่อถือได้ ถ้ามั่นใจว่าเลือกใช้วัคซีนที่มีคุณภาพดีแล้วแต่ยังคงไม่ได้ผลก็อาจเกิดจากการใช้วัคซีนที่ไม่ถูกต้อง เช่น การใช้วัคซีนเชื้อเป็นที่ตายแล้ว จากการเก็บรักษาหรือการใช้วัคซีนที่ไม่ถูกต้อง ถ้าเป็นการให้วัคซีนแก่สัตว์จำนวนมาก เช่นให้วัคซีนชนิดฉีดพ่น (aerosol) หรือละลายน้ำให้กิน ก็อาจมีสัตว์บางตัวที่ไม่ได้รับวัคซีน

ถ้าสัตว์ได้รับวัคซีนถูกต้องแต่ยังไม่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มโรคได้อีก ก็อาจเกิดเนื่องจากสัตว์นั้นได้รับเชื้อมาก่อนการได้รับวัคซีน และอยู่ในช่วงระยะฟักตัวของเชื้อจึงยังไม่แสดงอาการออกมา ดังนั้นการให้วัคซีนก็อาจจะสายเกินไป ระบบภูมิคุ้มกันนั้นเป็นระบบทางชีววิทยา ดังนั้นจึงไม่สามารถกำหนดได้ว่าสัตว์ทุกตัวจะสามารถตอบสนองต่อการให้วัคซีนได้ทุกตัว (สันนิภา สุรทัตต์ 2549) เช่นเดียวกับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของสุกรต่อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่มีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้องทั้งจากภูมิคุ้มกันโดยธรรมชาติของสุกรแต่ละตัว ขนาดของประชากรสุกร ประสิทธิภาพของภูมิคุ้มโรคต่อลักษณะพันธุกรรมของเชื้อพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้ เพศ พันธุ์ อายุ รวมถึงปัจจัยอื่น ๆ ของโฮสต์ที่มีผลต่อภูมิคุ้มกันในการตอบสนองต่อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและความเป็นไปได้ในการกดภูมิคุ้มกันของสุกรโดยเชื้อโรคชนิดอื่น (Michael, 2002) นอกจากนี้การให้วัคซีนที่ไม่ได้ผลมักเกิดจากการมองข้ามปัจจัยภายในตัวสัตว์ เช่น สัตว์มีภูมิคุ้มกันถ่ายทอดจากแม่สูงซึ่งมีผลรบกวนประสิทธิภาพของวัคซีน สัตว์มีภาวะเครียดจากสภาพแวดล้อม หรือสภาวะทางกายภาพ เช่น ตั้งท้อง เจ็บป่วย ขาดอาหาร น้ำ เป็นต้น ซึ่งมีผลทำให้ความสามารถในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันลดลง (สันนิภา สุรทัตต์ 2549)



ภาพที่ 2.1 สาเหตุหลักของความล้มเหลวในการให้วัคซีน (vaccine failure)

4. วัคซีนโรคพีอาร์อาร์เอส

วัคซีนเชื้อเป็น (Modified-Live Virus; MLV; attenuated vaccines) และวัคซีนเชื้อตาย (Killed virus (KV); inactivated vaccine) เป็นวัคซีนที่ใช้กันแพร่หลายในการป้องกันและควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอสร่วมกับการจัดการสุขภาพอื่น ๆ สายเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในภาคสนาม และไวรัสวัคซีนมีความหลากหลายมาก ในเรื่องพันธุกรรมและคุณสมบัติของแอนติเจน ซึ่งจากการวิจัยของ Yoon, Song and Lee (2007) ตรวจพบไวรัสที่มีความคล้ายคลึงกับไวรัสวัคซีนในสุกรที่ไม่ได้ฉีดวัคซีนและ/หรือฝูงพ่อแม่พันธุ์ในเกาหลี ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานก่อนหน้าที่พบว่ามีการถ่ายทอดเชื้อไวรัสวัคซีนในแม่พันธุ์จากการสัมผัสใกล้ชิดกัน ซึ่งนักวิจัยที่วิจัยเกี่ยวกับเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสหลายท่านมีข้อสันนิษฐานว่าวัคซีนชนิด attenuated จีโนไทป์อเมริกาเหนือเชื้อได้กลายพันธุ์เป็นไวรัสความรุนแรงและเป็นส่งผ่านกันภายในฝูงสุกร และเคยมีการรายงานทำให้มีการแพร่

เชื้อไวรัสวัคซีนจากแม่ที่ผ่านการให้วัคซีน ไปทำให้เกิดการเจริญพันธุ์ล้มเหลวในแม่ที่ไม่เคยผ่านการให้วัคซีน (กิจจา อุไรรงค์ 2555)

ตารางที่ 2.2 คำแนะนำการฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสในเชิงพาณิชย์ชนิด modified-live virus vaccines

Vaccine[1]	Pigs[2]	Route	Dose (ml)	Program
Ingelvac® PRRS MLV	Gilt/Sow	im	2	At any stage of production[3]
	Piglet/Nursery/Growing	im	2	At any stage of production[3]
ReproCyc® PRRS-PLE	Gilt/Sow	im	5	Primary: 4-6 wk prior to breeding Booster: prior to subsequent breeding
Ingelvac® PRRS ATP	Nursery/Growing	im	2	At 3-18 wk of age
Porcilis PRRS®	Gilt/Sow	im/id	2/0.2	Primary: 2-4 wk prior to breeding Booster: 2-4 wk prior to subsequent breeding/or every 4 mo
	Piglet/Nursery/Growing	im/id	2/0.2	At 2 wk of age or older
Amervac-PRRS®	Nursery/Growing	im	2	At 4 wk of age or older
Pyrsvac-183®	Gilt/Sow	im	2	Primary: 2-4 wk prior to breeding Booster: 3-4 wk prior to subsequent breeding
	Piglet/Nursery/Growing	im	2	At 2-3 wk of age or older

หมายเหตุ: 1 ไม่แนะนำให้ใช้ในฟาร์มที่ทดสอบให้ผลลบต่อเชื้อพีอาร์อาร์เอส

2 ไม่แนะนำให้ใช้ในพ่อสุกรเนื่องจากมีผลกระทบต่อคุณภาพของนำเชื้อ

3 แนะนำให้มีการฉีดวัคซีนซ้ำทั้งฝูงทุกๆ 3-4 เดือน Intramuscularly; id: Intradermally

ที่มา : Charerntantanakul (2012)

จากการรวบรวมของ Papatsiros (2012) สถานการณ์ปัจจุบันของวัคซีนพีอาร์อาร์เอสในเชิงพาณิชย์ในยุโรปมีวัคซีนอยู่ 2 ชนิด ได้แก่ วัคซีนเชื้อตาย และวัคซีนชนิดเชื้อเป็น ซึ่งวัคซีนเชื้อตายที่ใช้ในสหภาพยุโรปมีประสิทธิภาพที่จำกัด เนื่องจากกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสุกรได้ต่ำและไม่มีการเหนี่ยวนำที่มีประสิทธิภาพต่อแอนติบอดีที่มีหน้าที่ทำลายเชื้อ อย่างไรก็ตามวัคซีนเชื้อตาย สามารถ

กระตุ้นการตอบสนองเซลล์ภูมิคุ้มกันชนิดพึ่งเซลล์ (CMI) ให้แข็งแกร่ง ขณะที่วัคซีนเชื้อเป็นที่ใช้ให้ผลในการป้องกันที่มีประสิทธิภาพจำเพาะกับสายพันธุ์ และสามารถป้องกันโรคจากเชื้อต่างสายพันธุ์ได้เพียงบางส่วน และกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองค่อนข้างช้าของภูมิคุ้มกันชนิด humoral และ CMI ที่นำไปสู่การป้องกันที่ล่าช้า นอกจากนี้ยังอาจรบกวนประสิทธิภาพของวัคซีนชนิดอื่น เช่น วัคซีนป้องกัน *Mycoplasma hyopneumoniae* (Charerntantanakul, 2010) ในยุโรปการฉีดวัคซีนชนิดเชื้อตายพิสูจน์ได้ว่าช่วยลดผลกระทบเชิงลบของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในฝูงพ่อแม่พันธุ์ ปรับปรุงประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ของสุกร เช่น การเพิ่มขึ้นของอัตราการคลอดและจำนวนสุกรมีชีวิตหรือหย่านม การลดลงของอัตราการคลอดก่อนกำหนด อัตราการแท้ง และจำนวนตายแรกคลอด ส่วนการใช้วัคซีนเชื้อเป็นในฝูงที่มีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสนำไปสู่การปรับปรุง (1) การสืบพันธุ์ เช่น การลดการแท้งและอัตราการกลับสัด และการเพิ่มขึ้นของอัตราการคลอดและจำนวนของลูกสุกรหย่านม (2) สถานการณ์ติดเชื้อไวรัสในกระแสเลือด การเจ็บป่วยและอัตราการตายของลูกสุกร และ (3) การเจริญเติบโตของสุกรที่ได้รับวัคซีน

สรุปได้ว่าการใช้วัคซีนเชื้อเป็นและเชื้อตายในยุโรปเป็นเครื่องมือที่ประหยัดที่สุดในการควบคุมการสูญเสียทางเศรษฐกิจของการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส อย่างไรก็ตามการพัฒนาวัคซีนพีอาร์อาร์เอสที่มีประสิทธิภาพมากขึ้นเป็นเป้าหมายในอนาคตที่สำคัญ (Papatsiros, 2012) ปัจจุบันมีวัคซีนที่ใช้อย่างกว้างขวางทั่วโลก ดังตารางที่ 2.2 และ 2.3 อย่างไรก็ตามการใช้วัคซีนเชิงพาณิชย์ในประเทศไทยจำเป็นต้องมีการขออนุญาตนำเข้าและขึ้นทะเบียนจากสำนักงานคณะกรรมการงานอาหารและยา (อย.) ซึ่งวัคซีนพีอาร์อาร์เอสที่ผ่านการอนุญาตให้นำเข้าและมีการขึ้นทะเบียนในประเทศไทย ดังแสดงในตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.3 คำแนะนำการฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสในเชิงพาณิชย์ชนิด killed virus vaccines

Vaccine	Pigs	Route	Dose (ml)	Program
Progressis®/ Ingelvac® PRRS KV	Gilt	im	2	Primary: twice, 3-4 wk interval, at least 3 wk prior to breeding Booster: 60-70 d of each gestation
	Sow	im	2	Primary: twice, 3-4 wk interval, at any stage of production Booster: 60-70 d of each gestation
Suipravac-PRRS	Gilt	im	2	Primary: twice, 3-4 wk interval, when entering the farm Booster: Follow sows' vaccination program
	Sow	im	2	Primary: twice, 3-4 wk interval, during pregnancy or lactation Booster: every 4 mo
Suivac PRRS-INe/ Suivac PRRS-IN	Gilt/Sow	im	2	Primary: three times; 1st at 5-6 mo of age, 2nd at 3-4 wk after 1st, and 3rd at 6-4 wk prior to expected farrowing Booster: twice; 1st at 3-4 wk after the farrowing, and 2nd at 6-4 wk prior to the further expected farrowing
	Boar	im	2	Primary: twice, 4 wk interval, starting at 6 mo of age Booster: every 4-6 mo
	Nursery/ Growing	im	2	Three times: 3-4 wk interval, starting at 6-10 wk of age

หมายเหตุ: im หมายถึง Intramuscularly; KV หมายถึง Killed virus

ที่มา: Charerntantanakul (2012)

ตารางที่ 2.4 รายการวัคซีนพีอาร์อาร์เอสในเชิงพาณิชย์ที่มีใช้ในประเทศไทย

ชื่อทางการค้า	เลขทะเบียนยา	สารสำคัญ	ผู้ผลิต	ข้อบ่งใช้
SUIPRAVAC-PRRS	1F 59/2539	Inactivated PRRSV	LABORATORIOS HIPRA, S.A Kingdom of Spain	ป้องกันการก่อโรคโดยเชื้อ PRRS VIRUS ต่อระบบการสืบพันธุ์ของแม่สุกร
AMERVAC-PRRS	1F 21/2548(B)	Lived PRRSV STRAIN VP-046 BIS	LABORATORIOS HIPRA, S.A Kingdom of Spain	ป้องกันโรคระบบทางเดินหายใจและระบบสืบพันธุ์ในสุกรที่เกิดจากเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส
PORCILIS® PRRS	1F 71/2548(B)	PRRSV EU type	INTERVET INTERNATION B.V. Kingdom of the Netherlands	ใช้กระตุ้นภูมิคุ้มกันป้องกันโรค PRRS (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome) ในสุกรขุนการทำวัคซีนนี้จะมีผลทำให้ เชื้อไวรัสที่มีอยู่ในกระแสเลือดลดลง
INGELVAC PRRS MLV	1F 57/2549(B)	PRRSV strain ATCC VR-2332	บริษัท เบอริงเกอร์ อินเกลไฮม์ (ไทย) จำกัด	แนะนำให้ฉีดวัคซีนในสุกรที่มีสุขภาพดี เพื่อลดปัญหาโรคซึ่งเกิดจากไวรัสที่ก่อให้เกิดอาการกลุ่มโรคระบบสืบพันธุ์และระบบทางเดินหายใจ ในรูปแบบที่เกิดกับระบบพันธุ์ และระบบทางเดินหายใจ
Fostera™ PRRS	1F 84/2556(B) 1F 77/2556(B)	Modified live PRRSV, Strain P129	ZOETIS INC. United States of America	ใช้ทำวัคซีนในสุกรแข็งแรงที่มีอายุตั้งแต่ 3 สัปดาห์ขึ้นไป ที่ไวต่อการติดเชื้อ (susceptible) และเลี้ยงอยู่ในเล้าที่มีการระบาดของเชื้อ PRRS virus positive Herd หรือในสุกรที่มีผลเลือดเป็นลบ แต่มีความเสี่ยงที่จะสัมผัสกับเชื้อไวรัส prrs type II ที่มีผลกับ ระบบทางเดินหายใจ
INGELVAC 3 FLEX	2F 29/2556(B)	PCV type2 inactivated, killed Baculovirus vector, Mycoplasma hyopneumoniae strain J, PRRSV strain ATCC VR-2332	บริษัท เบอริงเกอร์ อินเกลไฮม์ (ไทย) จำกัด	ทำวัคซีนในสุกรที่สุขภาพแข็งแรงอายุตั้งแต่ 3 สัปดาห์เป็นต้นไปเพื่อ -ป้องกันการเสื่อมสลายของต่อมน้ำเหลือง ป้องกันการอักเสบ และ การฝังตัวของไวรัสเนื้อเยื่อน้ำเหลืองที่เกิดจาก Porcine Circovirus Type2 (PCV 2) -ลดรอยโรคที่เกิดจาก เชื้อ Mycoplasma hyopneumoniae และลดโรคทางระบบทางเดินหายใจที่เกี่ยวข้องกับการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

ที่มา: สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (2556)

นอกจากนี้ในการใช้วัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นยังมีข้อควรระวังหลายประการดังนี้

1. วัคซีนชนิดเชื้อเป็นไม่ควรใช้ในสุกรอุ้มท้องและสุกรพ่อพันธุ์เนื่องจากสามารถแฝงอยู่ในร่างกายสุกรได้นานหลายสัปดาห์ หรือบางครั้งนานหลายเดือน และมีความสามารถผ่านรกได้ซึ่งจะทำให้มีการติดต่อผ่านชั่วรุ่น (vertical transmission) ไปยังลูกสุกร และก่อให้เกิดความล้มเหลวของระบบสืบพันธุ์และมีการขับไวรัสปนเปื้อนในน้ำเชื้อและอาจทำให้สุกรป่วยได้ (รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช 2548)

2. สุกรที่ได้รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็นอาจมีการติดเชื้อแบบแฝงติดทน (persistent infection) และอาจขับไวรัสวัคซีนไปยังสุกรที่ไม่เคยได้รับเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสได้ โดยเฉพาะเมื่อฉีดให้กับสุกรที่ป่วยและอ่อนแอ (รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช 2548; สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย 2554)

3. ในช่วงก่อนและหลังการฉีดวัคซีน 2 - 3 วัน ควรให้ยาปฏิชีวนะผสมลงในอาหารหรือน้ำ เช่น โคลิสติน ซัลเฟต ร่วมกับแอมม๊อกซี่ซิลลิน เพื่อลดความเสี่ยงจากการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อน (สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย 2554)

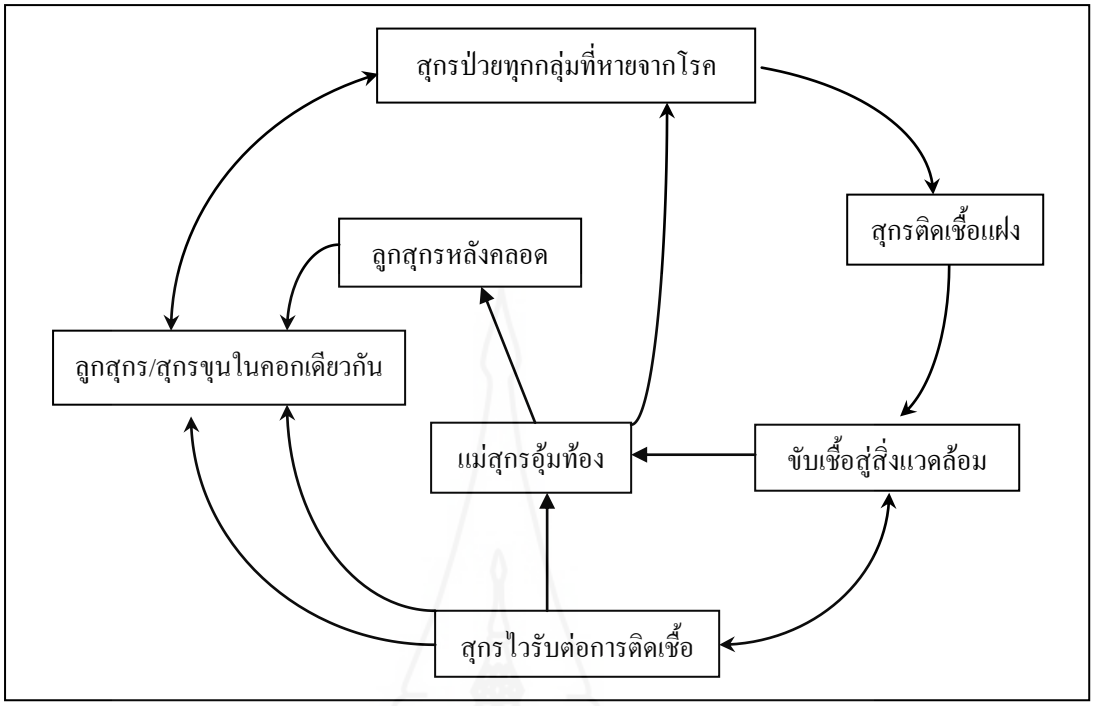
4. การฉีดวัคซีน PRRS ชนิดเชื้อเป็น อาจมีผลทำให้สายพันธุ์ของเชื้อไวรัส PRRS ในฟาร์มมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม (Recombination effect) (สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย 2554)

5. การควบคุมและป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอส

การควบคุมและป้องกันการติดโรคพีอาร์อาร์เอสทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากในการจัดการฟาร์มสุกรมีปัจจัยในทางปฏิบัติหลายอย่าง ซึ่งทำได้ยากกว่าการจัดการสุกรหนึ่งตัว และในฝูงสุกรยังมีสุกรที่ติดเชื้อหลายระยะ ซึ่งทำให้มีการเพิ่มจำนวนของไวรัสเป็นลูกโซ่ต่อไปในฝูงสุกร นอกจากนี้ไวรัสพีอาร์อาร์เอสยังสามารถติดต่อได้หลายทาง เช่น จากเข็มฉีดยา และโดยแมลงดูดเลือด ทำให้ยากต่อการควบคุม ดังนั้นการป้องกันที่ควรปฏิบัติ คือ การเฝ้าระวังสถานภาพภูมิคุ้มกันในฝูงแม่พันธุ์อย่างความสม่ำเสมอ ป้องกันการขับไวรัสพีอาร์อาร์เอสในฝูงแม่พันธุ์โดยการตรวจทางซีรั่มวิทยา เช่น วิธีอีไลซ่า และการเพาะแยกเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส จากฝูงแม่พันธุ์ และสุกรทดแทนเป็นประจำ สามารถลดโอกาสการนำเข้าไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ใหม่สู่ฟาร์มได้ คอกกักโรคสุกรทดแทนควรอยู่แยกจากคอกสุกรพันธุ์และคอกสุกรขุน และควรปฏิบัติงานในคอกสุกรทดแทนเป็นคอกสุดท้าย โดยเริ่มจากการปฏิบัติงานในเล้าคลอด สุกรอนุบาล สุกรขุน และสุกร

ทดแทนตามลำดับ (รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช 2548) เนื่องจากเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสมีการพัฒนาอย่างรวดเร็วและการติดเชื้อไวรัสมักจะเป็นไปอย่างปกติในทางคลินิก ยกเว้นในสัตว์ที่ติดเชื้อแบบแฝง การตรวจหาสุกรที่เป็นพาหะของโรคได้รวดเร็วและให้ผลที่แน่นอนจึงเป็นสิ่งสำคัญในการป้องกันโรค ควบคุมและ/หรือการกำจัดโรคให้หมดไป ไวรัสสามารถถูกตรวจพบเป็นเวลานานในน้ำเชื้อสุกรจึงสามารถส่งผ่านเชื้อไวรัสไปยังสุกรตัวอื่นผ่านการผสมเทียมได้จากการใช้น้ำเชื้อที่มีเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ดังนั้นการตรวจคัดกรองอย่างรวดเร็วจากแอนติบอดีต่อเชื้อไวรัส ด้วยวิธี ELISA เป็นวิธีที่ควรนำมาใช้ในการตรวจหาเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (Yoon, Song and Lee, 2007) ทั้งนี้การติดเชื้อแบบแฝงติดทน (Persistent infection) เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้การกำจัดโรคพีอาร์อาร์เอสเป็นไปอย่างยากลำบาก เนื่องจากสุกรที่หายป่วยแล้วจะมีอาการติดเชื้อแบบแฝงติดทน โดยเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่อยู่ในร่างกายสามารถขับออกมายังสิ่งแวดล้อมได้นานหลายเดือน และติดต่อไปยังสุกรไวรับได้แม้ว่าจะไม่มีอาการทางคลินิกก็ตาม โดยสุกรที่ติดเชื้อสามารถตรวจพบไวรัสพีอาร์อาร์เอส ในตัวสุกรได้นานกว่า 150 วัน ในลูกสุกรที่เกิดจากแม่ที่ได้รับเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสขณะอุ้มท้อง 90 วัน จะสามารถเพาะแยกไวรัสพีอาร์อาร์เอสจากลูกหลังคลอดได้นานถึง 132 วัน ซึ่งลูกสุกรที่มีเชื้อนี้จะเป็นตัวขับไวรัสพีอาร์อาร์ไปยังลูกสุกรไวรับที่อยู่ในคอกเดียวกันจากการสัมผัสโดยตรง การติดเชื้อแบบแฝงติดทนสามารถพบได้ในสุกรทุกอายุ ดังแผนภาพที่ 2.2 (รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช 2548)

กรณีการควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อโรค กรณีฝูงที่พบการแพร่กระจายของเชื้อจากวิธีการตรวจทางซีรั่มวิทยา ควรหยุดการนำสุกรสาวเข้าทดแทนเป็นเวลา 4 - 6 เดือน เพื่อทำให้ระดับของภูมิคุ้มโรคในฝูงคงที่ (Nilubol and Thacker, 2002)



ภาพที่ 2.2 ลักษณะการติดเชื้อแบบแฝงติดทนในฝูงสุกร

ที่มา: ดัดแปลงจาก รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช (2548)

เพื่อให้สะดวกต่อการจัดการฟาร์มเพื่อการควบคุมป้องกันโรค สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย (2554) จึงได้ทำการจำแนกประเภทสถานภาพโรคพีอาร์อาร์เอสของฝูงสุกรที่มีการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อพีอาร์อาร์เอสจำแนกออกเป็น 4 ประเภท ดังนี้

1. ฝูงสุกรพ่อ-แม่พันธุ์และสุกรอนุบาล-ขุน ไม่ติดเชื้อ (Negative Herd)
   - ค่าผลเลือดโดยวิธี ELISA เป็นลบ ทั้งในฝูงสุกรพ่อ-แม่พันธุ์และสุกรอนุบาล-ขุน
   - ไม่มีปัญหาโรคพีอาร์อาร์เอส ทั้งในฝูงสุกรพ่อแม่พันธุ์ และสุกรอนุบาล-ขุน
2. ฝูงสุกรพ่อ-แม่พันธุ์และสุกรอนุบาล-ขุน ติดเชื้อแต่ไม่มีปัญหา (Stable/Inactive herd)
   - ค่าผลเลือดโดยวิธี ELISA ในฝูงสุกรพ่อ-แม่พันธุ์ เป็นบวก
   - ในฝูงสุกรอนุบาล-ขุน เป็นบวก และ/หรือ ลบ
   - ไม่มีปัญหาที่เกี่ยวข้องกับโรคพีอาร์อาร์เอส ทั้งในฝูงสุกรพ่อ-แม่พันธุ์และสุกรอนุบาล-ขุน
3. ฝูงสุกรพ่อ-แม่พันธุ์ติดเชื้อและไม่มีปัญหา แต่มีปัญหาเฉพาะในสุกรอนุบาล ขุน (Stable/Active Herd)
   - ค่าผลเลือดโดยวิธี ELISA เป็นบวก ทั้งในฝูงสุกรพ่อ-แม่พันธุ์และสุกรอนุบาล-ขุน

- มีปัญหาที่เกี่ยวข้องกับโรคพีอาร์อาร์เอสเฉพาะในสุกรอนุบาล-ขุน

4. ฝูงสุกรพ่อ-แม่พันธุ์และสุกรอนุบาล-ขุน ติดเชื้อและมีปัญหา (Unstable Herd)

- ค่าผลเลือดโดยวิธี ELISA เป็นบวก ทั้งในฝูงพ่อ-แม่พันธุ์และสุกรอนุบาล-ขุน
- มีปัญหาที่เกี่ยวข้องกับโรคพีอาร์อาร์เอสทั้งในฝูงสุกรพ่อ-แม่พันธุ์และสุกรอนุบาล-ขุน

และจากการจัดกลุ่มสุกรสามารถสรุปการป้องกันและควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอสได้ ดังแสดงในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 การป้องกันและควบคุมโรค PRRS

ชนิดของฝูงสุกร	แนวทางการควบคุมโรค พีอาร์อาร์เอส	
	โดยไม่ใช้วัคซีน	โดยใช้วัคซีน
1. ฝูงสุกรพ่อ-แม่พันธุ์และสุกรอนุบาล-ขุนไม่ติดเชื้อ (Negative Herd)	- เน้นการจัดการระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ - ไม่แนะนำให้มีการใช้วัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอส ทั้งชนิดเชื้อเป็นและเชื้อตาย	
2. ฝูงสุกรพ่อ-แม่พันธุ์และสุกรอนุบาล-ขุนติดเชื้อแต่ไม่มีปัญหา (Stable/ Inactive herd)	- เน้นการจัดการระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ 1. ปรับสภาพสุกรสาวทดแทน โดยใช้ตัวให้เชื้อหรือไวรัสที่แยกได้ในฟาร์ม	1. ปรับสภาพสุกรสาวทดแทน โดยใช้วัคซีน 2. ไม่แนะนำให้ใช้วัคซีนชนิดเชื้อเป็นในฝูงสุกรพ่อ-แม่พันธุ์ และสุกรอนุบาล-ขุน
3. ฝูงสุกรพ่อ-แม่พันธุ์ติดเชื้อและไม่มีปัญหา แต่ฝูงสุกรอนุบาล-ขุนมีปัญหาเฉพาะในสุกรอนุบาล (Stable / Active Herd)	- เน้นการจัดการระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ 1. ปรับสภาพสุกรสาวทดแทน โดยใช้ตัวให้เชื้อหรือไวรัสที่แยกได้ในฟาร์ม 2. เน้นการจัดการ: - พ่อพันธุ์ที่ใช้งานต้องอยู่ในสภาวะที่ไม่มีการแพร่เชื้อผ่านน้ำเชื้อ (ไม่มีอาการป่วย) - พ่อพันธุ์ใช้งานและพ่อสุกรทดแทนต้องผ่านการปรับสภาพและมีระยะพักอย่างน้อย 8 สัปดาห์ - แต่ละโรงเรือนจัดการแบบ all-in/all-out - เมื่อพบการป่วยให้หยุดการนำเข้าสุกรทดแทน ลดการเคลื่อนย้ายสุกรกลุ่มต่าง ๆ ให้ยาปฏิชีวนะพร้อมกันทั้งฝูง และลดปริมาณเชื้อที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมโดยการใช้ยาฆ่าเชื้อ	1. ปรับสภาพสุกรสาวทดแทน โดยให้วัคซีนเชื้อเป็น 1 เข็มหลังรับสุกรทดแทนเข้าเลี้ยง 5-7 วัน และฉีดซ้ำด้วยวัคซีนเชื้อเป็นหรือเชื้อตายอีก 1-2 ครั้ง ห่างกัน 3-4 สัปดาห์ 2. เน้นการจัดการเช่นเดียวกับแนวทางการไม่ใช้วัคซีน 3. ไม่แนะนำให้ใช้วัคซีนชนิดเชื้อเป็นในฝูงสุกรพ่อ-แม่พันธุ์ที่ไม่เคยผ่านการฉีดวัคซีนเชื้อเป็นมาก่อนในช่วงเตรียมสุกรทดแทน 4. แนะนำให้ฉีดวัคซีนเชื้อเป็น 1 ครั้งในลูกสุกรอายุ 2 สัปดาห์ ขึ้นไป

ตารางที่ 2.5 (ต่อ)

ชนิดของฝูงสุกร	แนวทางการควบคุมโรค พีอาร์อาร์เอส	
	โดยไม่ใช้วัคซีน	โดยใช้วัคซีน
4. ฝูงสุกรพ่อ-แม่พันธุ์และสุกรอนุบาล-ขุน ติดเชื้อและมีปัญหา (Unstable Herd)	- เน้นการจัดการระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ - เน้นการจัดการ: ● พ่อพันธุ์ที่ใช้งานต้องอยู่ในสภาวะที่ไม่มีการแพร่เชื้อผ่านน้ำเชื้อ (ไม่มีอาการป่วย) ● พ่อพันธุ์ใช้งานและพ่อสุกรทดแทนต้องผ่านการปรับสภาพและมีระยะพักอย่างน้อย 8 สัปดาห์ ● แต่ละโรงเรือนจัดการแบบ all-in/all-out ● เมื่อพบการป่วยให้หยุดการนำเข้าสุกรทดแทน ลดการเคลื่อนย้ายสุกรกลุ่มต่าง ๆ ให้ยาปฏิชีวนะพร้อมกันทั้งฝูงและลดปริมาณเชื้อที่อยู่ในสิ่งแวดล้อมโดยการใช้ยาฆ่าเชื้อ ● กรณีพบพ่อพันธุ์แสดงอาการป่วยหยุดการใช้งานพ่อพันธุ์ทั้งฟาร์ม ให้ใช้น้ำเชื้อที่ปลอดเชื้อไวรัสจากภายนอก หยุดการผสมสุกรในฟาร์มอย่างน้อย 1 เดือน หลังพบการระบาดในฟาร์ม ● แยกสุกรที่แสดงอาการป่วยออกจากฝูง เพื่อลดการแพร่เชื้อและทำการรักษาเป็นรายตัว	
	1. ปรับสภาพสุกรสาวทดแทน โดยใช้ตัวให้เชื้อหรือไวรัสที่แยกได้ในแต่ละฟาร์ม	1. ปรับสภาพสุกรสาวทดแทน โดยให้วัคซีนเชื้อเป็น 1 เข็มหลังรับสุกรทดแทนเข้าเลี้ยง 5-7 วัน และฉีดซ้ำด้วยวัคซีนเชื้อเป็นหรือเชื้อตายอีก 1-2 ครั้ง ห่างกัน 3-4 สัปดาห์ 2. ฉีดวัคซีนเชื้อเป็นในฝูงสุกรแม่พันธุ์แบบพร้อมกันทุกตัวด้วยวัคซีนเชื้อเป็น 1 ครั้ง และควรฉีดซ้ำอีกใน 3-4 สัปดาห์ถัดไป หลังจากนั้น 3 สัปดาห์จึงเข้าโปรแกรมวัคซีนสำหรับแม่สุกร - ฉีดวัคซีนเชื้อเป็นหรือเชื้อตายในแม่สุกรตั้งท้องก่อนคลอด 4-6 สัปดาห์ หรือ - ฉีดวัคซีนเชื้อเป็นหรือเชื้อตายพร้อมกันทุกตัวทุก 3-4 เดือน 3. แนะนำให้ฉีดวัคซีนเชื้อเป็น 1 ครั้งในลูกสุกรอายุ 2 สัปดาห์ขึ้นไป

ที่มา: สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย (2554)

6. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษางานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาค้นคว้าอิสระเรื่อง การวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอสเพื่อการจัดการควบคุมและป้องกันโรคด้วยวัคซีนในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย พบรายงานการศึกษาวิจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้

อลงกต บุญสูงเนิน และคนอื่นๆ (2546) รายงานการระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอสในจังหวัดสุพรรณบุรี พ.ศ. 2545 ทำให้ทราบว่าฟาร์มสุกร Stable inactive herd สามารถเกิดการระบาดอย่างรุนแรงได้หากมีปัจจัยโน้มนำ และการใช้วัคซีน PRRS ชนิดเชื้อตายฉีดแม่สุกรก่อนคลอด 3 สัปดาห์ร่วมกับใช้สารจับสารพิษจากเชื้อราในอาหารสุกรสามารถลดความรุนแรงของการระบาดได้มากภายใน 3 สัปดาห์

Zuckermann and others (2007) ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนเชื้อเป็น (modified live virus vaccine) และวัคซีนเชื้อตาย (killed vaccine) โดยการฉีดเชื้อพิษทับหลังการทำวัคซีน 4 สัปดาห์ พบว่ามีเพียงวัคซีนเชื้อเป็นเท่านั้นที่มีความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันจากการวัดปริมาณไวรัสในกระแสเลือดและเนื้อเยื่อ

Yoon, Song and Lee (2008) ได้ทำการวิจัยตรวจสอบลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอสของประเทศเกาหลีใต้ที่แยกเชื้อได้ในช่วง พ.ศ. 2546 - 2551 โดยทำการตรวจสอบที่ตำแหน่ง nucleocapsid protein gene (ORF7) ซึ่งเชื้อไวรัสทั้งหมดเป็น North American genotype

Amonsin, Kedkovid and Puranaveja (2009) ได้ศึกษาวิจัยเปรียบเทียบลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้ในประเทศไทยทั้งเชื้อ US และ EU genotypes ในช่วงปี 2545 - 2551 ผลการศึกษาโดยรวมพบว่าเชื้อ EU genotype ที่แยกได้ของไทยอาจจะมีการเปลี่ยนแปลงมาจาก EU prototype; Lelystad virus ในขณะที่เชื้อ US genotype ที่เพาะแยกได้ในไทยมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับไวรัสวัคซีน MLV หรืออนุพันธุ์ของเชื้อ ที่น่าสนใจคือวัคซีน US-MLV ยังไม่สามารถใช้ได้ในตลาดประเทศไทยในปี 2544 ซึ่งอาจจะเกิดจากการติดเชื้อแฝงติดทนของเชื้อไวรัสวัคซีนในสุกรที่นำเข้าหรือน้ำอสุจิและเกิดการแพร่กระจายในอุตสาหกรรมสุกรไทยต่อมา โดยรายงานวิจัยนี้เป็นรายงานแรกของการศึกษาลำดับสารพันธุกรรมที่สมบูรณ์ของไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่แยกเชื้อได้ในประเทศไทยของเชื้อทั้งสอง genotypes

Kedkovid and others (2010) ได้ทำการวิจัยความแปรผันของลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอสซึ่งเป็นการศึกษาชิ้นแรกในการตรวจสอบความแปรผันทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอสในประเทศไทย พบว่าเชื้อไวรัสมีความแปรผันอย่างมากโดยเฉพาะในยีน NSP2

ผลการศึกษาพบว่า 9 ใน 10 สายพันธุ์ PRRSV ในไทยซึ่งอาจมีวิวัฒนาการมาจากไวรัสที่รู้จักในอดีตที่ผ่านมา

Tun, Shi and Wong (2011) จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในประเทศไทย ในช่วง พ.ศ. 2543 - 2551 พบว่า เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่พบในประเทศไทยมีต้นกำเนิดที่มีความหลากหลายในทั้งสองสายพันธุ์โดยเชื้อในกลุ่ม Type I มีความใกล้ชิดกับไวรัสต้นแบบ (Lelystad virus) และเชื้อไวรัส Porcilis® PRRS และกลุ่ม Type II มีลักษณะความเหมือนเชื้อไวรัสวัคซีน MLV และจากผลการศึกษาคณะผู้วิจัยได้เสนอแนะกลยุทธ์ในการควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอสในประเทศไทย ได้แก่ (1) หลีกเลี่ยงการฉีดวัคซีนแบบสุ่มและให้ใช้วัคซีนที่ผลิตขึ้นมาสอดคล้องกับเชื้อเป้าหมาย (2) มีการตรวจเฝ้าระวังการนำเข้าสุกรและการเคลื่อนย้ายและ (3) การดำเนินการความปลอดภัยทางชีวภาพที่ดีขึ้นจะช่วยลดการแพร่กระจายของเชื้อแบบ horizontal ซึ่งจะช่วยให้การควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอสในประเทศไทยให้มีประสิทธิภาพ

Geldhof and others (2012) จากการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนชนิด Autogenous vaccine เปรียบเทียบกับ commercial vaccine พบว่าวัคซีนเชื้อตายทั้งชนิด autogenous vaccine และ commercial vaccine รวมถึงวัคซีนเชื้อเป็น commercial vaccine ที่มีสายพันธุ์เดียวกับเชื้อไวรัสที่ได้รับให้ผลในการลดภาวะติดเชื้อไวรัสในกระแสเลือดให้สั้นลง แต่ในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายชนิดต่างสายพันธุ์ไม่พบว่ามีผลต่อภาวะติดเชื้อไวรัสในกระแสเลือด

Nilubol and others (2012) ศึกษาเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่มีการระบาดใน พ.ศ. 2553 - 2554 จากการสอบสวนการระบาดเพื่อหาเส้นทางของการแพร่กระจายของเชื้อไวรัส ก่อนที่จะเกิดการระบาดในประเทศไทยจากซากสุกรที่มีการลักลอบนำสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาวเพื่อมาทำการชำแหละในโรงฆ่าสัตว์ผิดกฎหมายซึ่งตั้งอยู่ไม่ไกลจากฟาร์มแรกที่เกิดการระบาดของโรคขึ้น โดยเจ้าของฟาร์มมักจะเข้าเยี่ยมชมโรงฆ่าสัตว์ดังกล่าว ผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นการเคลื่อนย้ายสุกรที่มีการติดเชื้อในประเทศเพื่อนบ้านอาจมีบทบาทสำคัญในการนำเชื้อ HP-PRRSV ไปยังพื้นที่อื่น และจากการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสที่แยกได้จากสุกรในช่วงการระบาดของประเทศไทย แสดงให้เห็นว่า 30 amino acids ที่ขาดหายไปใน nonstructural protein2 (NSP2) ที่เหมือนกันกับ PRRSV ในประเทศจีนและอาจมีการแพร่กระจายมายังประเทศไทยผ่านช่องทางการขนส่งสุกรติดเชื้อที่ผิดกฎหมายจากประเทศที่มีพรมแดนติดกัน

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้เป็นการวิจัยเชิงประยุกต์ การวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอสเพื่อการควบคุมและป้องกันโรคด้วยวัคซีนในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทยมีวิธีดำเนินการวิจัยดังนี้

1. ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง
2. เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย
3. การเก็บรวบรวมข้อมูล
4. การวิเคราะห์ข้อมูล

1. ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

1.1 ประชากร คือ ซากสุกรจากฟาร์มสุกรในเขตภาคเหนือตอนล่าง ได้แก่ จังหวัดกำแพงเพชร ตาก นครสวรรค์ พิจิตร เพชรบูรณ์ พิษณุโลก สุโขทัย และอุตรดิตถ์ ที่ส่งตรวจชันสูตรโรคและให้ผลบวกต่อการตรวจชันสูตรโรคพีอาร์อาร์เอสด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction: PCR) ณ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่างใน พ.ศ. 2552 - 2555 จำนวน 126 ตัวอย่าง

1.2 กลุ่มตัวอย่าง คือ ซากสุกรที่ให้ผลบวกต่อการตรวจหาสารพันธุกรรมพีอาร์อาร์เอสไวรัสด้วยวิธี PCR ใน พ.ศ. 2552 - 2555 จำนวน 22 ตัวอย่าง จากการเลือกแบบเจาะจง ตัวอย่างดังกล่าวนำไปตรวจหาลำดับสารพันธุกรรมของไวรัสเพื่อยืนยันชนิดสายพันธุ์ของไวรัสพีอาร์อาร์เอสด้วยเทคนิค DNA Sequencing และ Sequencing data analysis (ตารางที่ 3.1) แต่ละตัวอย่างกำหนดรหัสเป็น XXXYYZZ และทำการกำหนดรหัสตัวอย่าง ดังนี้

XXX คือ รหัสจังหวัดของตัวอย่างที่ตรวจ: กำแพงเพชร; KPT ตาก; TAK นครสวรรค์; NSN พิจิตร; PCT เพชรบูรณ์; PBN พิษณุโลก; PLK สุโขทัย; SKT และอุตรดิตถ์; UTT

YY คือ ตัวเลข พ.ศ. สองตัวท้ายที่ตรวจพบ

ZZ คือ ลำดับที่ตัวอย่างที่ถูกเลือกมาในปีนั้น ๆ โดยเรียงตามระยะเวลาที่ห้องปฏิบัติการรับตัวอย่าง

ตารางที่ 3.1 ตัวอย่างพีอาร์อาร์เอสพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างที่ใช้ในการศึกษา

หมายเลขตัวอย่าง	อำเภอ	จังหวัด	ปี
PLK521	บางระกำ	พิษณุโลก	2552
UTT531	พิชัย	อุตรดิตถ์	2553
SKT532	กงไกรลาศ	สุโขทัย	2553
KPT533	ขาณุวรลักษบุรี	กำแพงเพชร	2553
PLK534	บางกระทุ่ม	พิษณุโลก	2553
KPT535	ลานกระบือ	กำแพงเพชร	2553
PBN536	บึงสานพัน	เพชรบูรณ์	2553
PCT541	วชิรบารมี	พิจิตร	2554
KPT542	เมือง	กำแพงเพชร	2554
PLK543	นครไทย	พิษณุโลก	2554
UTT544	ลับแล	อุตรดิตถ์	2554
PLK545	เมือง	พิษณุโลก	2554
TAK546	แม่สอด	ตาก	2554
PLK547	บางกระทุ่ม	พิษณุโลก	2554
PCT548	ทับคล้อ	พิจิตร	2554
KPT549	พรานกระต่าย	กำแพงเพชร	2554
PBN5410	วิเชียรบุรี	เพชรบูรณ์	2554
NSN5411	บรรพตพิสัย	นครสวรรค์	2554
NSN551	โกรกพระ	นครสวรรค์	2555
PLK552	บางกระทุ่ม	พิษณุโลก	2555
PBN553	วิเชียรบุรี	เพชรบูรณ์	2555
SKT554	คีรีมาศ	สุโขทัย	2555

2. เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

2.1 เครื่องมือที่ใช้ในการรวบรวมข้อมูลของประชากรและกลุ่มตัวอย่าง ใช้แบบฟอร์มรับตัวอย่างเพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการกลุ่มชันสูตรโรคสัตว์ (ภาคผนวก ก) ประกอบด้วย 4 ส่วน คือ 1) ข้อมูลพื้นฐานของซากสุกรตัวอย่าง 2) ข้อมูลพื้นฐานของฟาร์มที่ส่งซากสุกรเพื่อตรวจวินิจฉัย 3) การจัดการในฟาร์มเลี้ยงสุกรที่ส่งตรวจวินิจฉัย และ 4) ข้อเสนอแนะเบื้องต้นในการจัดการฟาร์มสุกรที่มีซากสัตว์ส่งตรวจวินิจฉัย

2.2 เครื่องมือที่ใช้ศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัส ใช้เครื่องตรวจวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรม ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) ซึ่งมีขั้นตอนและวิธีการในการตรวจทางห้องปฏิบัติการดังภาคผนวก ข และวิเคราะห์คุณภาพของกรดนิวคลีอิกด้วยโปรแกรม sequencing analysis (ABI) และโปรแกรม BioEdit version 7.2.2 (Hall, 1999)

2.3 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลลำดับสารพันธุกรรมและความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (sequencing and phylogenetic analysis) นำข้อมูลลำดับสารพันธุกรรมยีน nucleocapsid protein (N gene) ของไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่ศึกษาเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์อ้างอิงของยีน nucleocapsid protein (N gene) จากตำแหน่ง ORF7 ของไวรัสพีอาร์อาร์เอสจากฐานข้อมูลของ (National Center for Biotechnology Information 2013) จำนวน10 ตัวอย่างและใช้ไวรัส equine arteritis virus (EAV) ในม้าเป็น outgroup (ตารางที่ 3.2) และวิเคราะห์ความเหมือนของลำดับนิวคลีโอไทด์ (percentage of identity) ด้วยโปรแกรม BioEdit version 7.2.2 (Hall, 1999) และ Muscle (Edgar, 2004) ของไวรัสพร้อมทั้งวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ด้วย Neighbor-Joining method Kimura's 2-parameter model และทดสอบความน่าเชื่อถือด้วย Bootstrap value เท่ากับ 1,000 ด้วยโปรแกรม MEGA version 5.2 (Tamura, Peterson and Peterson, 2011)

2.4 เครื่องมือทางสถิติใช้สถิติเชิงคุณภาพ เช่น ร้อยละ และทดสอบความแตกต่างของสัดส่วนการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ชนิด สายพันธุ์ US และสายพันธุ์ EU โดยใช้สถิติเชิงวิเคราะห์ Chi-Square Test

3. การเก็บรวมรวมข้อมูล

3.1 ข้อมูลปฐมภูมิ ข้อมูลการตรวจหาลำดับสารพันธุกรรมโดยศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง

3.2 ข้อมูลทุติยภูมิ ข้อมูลสภาพการจัดการในฟาร์มสุกรเขตพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างจากแบบฟอร์มรับตัวอย่างเพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการ และข้อมูลการตรวจพบเชื้อพีอาร์อาร์เอสโดยศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง

ตารางที่ 3.2 เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสอ้างอิงของยีน nucleocapsid protein (N gene) ในการวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรมกับเชื้อที่พบในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง

Name	Place and year	Genotype	Accession number
ATCC VR-2332	USA, 1989	US	U87392
Lelystad virus	Netherlands, 1991	EU	M96262
01RB1	Thailand, 2004	EU	AY796316
01NP1	Thailand, 2005	US	AY745499
01CB1	Thailand, 2005	EU	DQ864705
01NP1	Thailand, 2004	US	DQ056373
Amervac	Spain, 2006	EU	DQ324698
Ingelvac MLV	USA, 2009	US	FJ629371
Pyrsvac	Spain, 2005	EU	DQ324712
EAV ORF7	USA, 1999	-	AF11872

ที่มา: National Center for Biotechnology Information (2013)

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 วิเคราะห์ตัวอย่างเนื้อเยื่อสุกรที่ส่งตรวจหาลำดับสารพันธุกรรม (Genetic sequencing) และหาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ

4.2 วิเคราะห์ข้อมูลการจัดการฟาร์มสุกรในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างที่ส่งซากสุกรตรวจวินิจฉัยที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง

4.3 วิเคราะห์ข้อมูลสัดส่วนการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยใช้สถิติเชิงคุณภาพ เช่น ร้อยละ และวิเคราะห์ความแตกต่างของสัดส่วนการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ชนิดสายพันธุ์

4.4 วิเคราะห์ข้อมูลการใช้วัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสในฟาร์มสุกรในช่วงเวลาที่มีการระบาดของโรคจากข้อมูลการสัมภาษณ์เกษตรกร

บทที่ 4
ผลการวิเคราะห์ข้อมูล

ในการศึกษาค้นคว้าอิสระ เรื่องการวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอสเพื่อการควบคุมและป้องกันโรคด้วยวัคซีนในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย มีวัตถุประสงค์การวิจัย (1) เพื่อศึกษาข้อมูลพื้นฐานของซากสุกรและฟาร์มสุกร (2) เพื่อศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส และ (3) เพื่อศึกษาแนวทางการควบคุมและป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสด้วยวัคซีนในเขตภาคเหนือตอนล่าง โดยแบ่งเป็นหัวข้อ ดังนี้

1. ข้อมูลพื้นฐานของซากสุกรและฟาร์มสุกร

1.1 ข้อมูลพื้นฐานของซากสุกร

ข้อมูลจากบันทึกการรับตัวอย่างตามแบบฟอร์มรับตัวอย่าง (ภาคผนวก ก) ที่สัมภาษณ์เกษตรกรหรือตัวแทนที่นำตัวอย่างซากสุกรที่ป่วยตายมาส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการกลุ่มชันสูตรโรคสัตว์ ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง ระหว่าง พ.ศ. 2552 - 2555 ตัวอย่างซากสุกรที่ให้ผลบวกต่อการทดสอบโรคพีอาร์อาร์เอสจำนวน 126 ตัวอย่าง มาจากฟาร์มสุกรของเกษตรกร จำนวน 90 ฟาร์ม พบว่าสุกรที่ป่วยตายส่วนใหญ่อยู่ในช่วง 4 - 6 สัปดาห์ (ร้อยละ 34.44) ซึ่งเป็นช่วงอนุบาลเพื่อรอการขึ้นขุน เป็นสายพันธุ์ลูกผสม (ร้อยละ 44.44) และเป็นสัตว์ที่มีอยู่เดิมในฟาร์ม (ร้อยละ 44.44) ซึ่งข้อมูลในส่วนสถานภาพของสัตว์นี้เป็นส่วนที่ไม่มีข้อมูลในบันทึกสูงถึงร้อยละ 33.33 มีการทำวัคซีนป้องกันโรคเป็นส่วนใหญ่ (ร้อยละ 37.78) แต่เน้นที่โรคอหิวาต์สุกรเป็นหลัก ซึ่งวัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสเริ่มมีการนำมาใช้บ้างในช่วงปลาย พ.ศ. 2553 ซึ่งเป็นช่วงหลังจากเริ่มมีการระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอส และมีการใช้เพิ่มมากขึ้นในช่วง พ.ศ. 2554 โดยมีการใช้เน้นไปในกลุ่มแม่พันธุ์ซึ่งมีการใช้ทั้งวัคซีนชนิดเชื้อเป็นและเชื้อตาย อย่างไรก็ตามจากข้อมูลมาตรการควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอสเพิ่มเติมในช่วงที่มีการระบาดของโรคของจังหวัดกำแพงเพชร เน้นมาตรการการป้องกันเชื้อโรคเข้าสู่ฟาร์มมากกว่าการใช้วัคซีนป้องกันโรค ในการลดความสูญเสียจากการติดเชื้อพีอาร์อาร์เอส เนื่องจากประสิทธิภาพของวัคซีนยังให้ผลไม่แน่นอน

นอกจากนี้จากข้อมูลพื้นฐานที่เกี่ยวข้องกับการบริหารวัคซีน พบว่ามีการให้วัคซีนในสัตว์ที่นำเข้ามาใหม่ในฟาร์มในช่วงสัปดาห์แรกของการนำสัตว์เข้าใหม่ ซึ่งมีผลให้สัตว์เกิดความเครียดและป่วยได้ ส่งผลให้การให้วัคซีนไม่สามารถกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันให้สัตว์ได้

อย่างไรก็ตามจากบันทึกการรับตัวอย่างข้อมูลที่ได้จากแต่ละฟาร์มนั้นมีส่วนที่ไม่มีการบันทึกข้อมูลอยู่มากโดยเฉพาะเรื่องพันธุ์สัตว์ (ร้อยละ 42.22) ซึ่งทุกส่วนมีผลต่อการการวางแผนการจัดการฟาร์มสุกรเพื่อการป้องกันและควบคุมโรค

ตารางที่ 4.1 ข้อมูลพื้นฐานของซากสุกรตัวอย่างที่ทำการศึกษา

n = 90

ข้อมูลพื้นฐาน	จำนวนฟาร์ม	ร้อยละ
อายุ		
- น้อยกว่า 4 สัปดาห์	11	12.22
- 4-6 สัปดาห์	31	34.44
- 7-9 สัปดาห์	20	22.22
- 10-24 สัปดาห์	9	10.00
- มากกว่า 24 สัปดาห์	8	8.89
- ไม่มีข้อมูล	11	12.22
พันธุ์		
- พื้นเมือง	4	4.44
- พันธุ์แท้: ลาร์จไวท์ แลนด์เรซ เปียแตรง ดูรอค เจอร์ซี	8	8.89
- พันธุ์ผสม	40	44.44
- ไม่มีข้อมูล	38	42.22
ประวัติวัคซีนและการถ่ายพยาธิ		
- มีเฉพาะการทำวัคซีน	34	37.78
- มีเฉพาะการถ่ายพยาธิ	3	3.33
- มีการทำวัคซีนและถ่ายพยาธิ	6	6.67
- ไม่มีการทำวัคซีนและถ่ายพยาธิ	22	24.44
- ไม่มีข้อมูล	25	27.78
สถานภาพสัตว์		
- เป็นสัตว์ที่มีอยู่เดิม	40	44.44
- เป็นสัตว์นำเข้าใหม่	20	22.22
- ไม่มีข้อมูล	30	33.33

ข้อแนะนำเบื้องต้นจากเจ้าหน้าที่ปศุสัตว์ในพื้นที่และศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่างที่แนะนำให้เกษตรกรปฏิบัติ คือ แนะนำให้มีการแยกสัตว์ป่วยออกจากฝูง การให้ยาปฏิชีวนะและวิตามินบำรุงแก่สัตว์ป่วยเพื่อป้องกันการติดเชื้อแทรกซ้อน ทำการฆ่าเชื้อคอกเลี้ยงสัตว์ที่มีสัตว์ป่วย ควบคุมการเคลื่อนย้ายสัตว์เข้าออกฟาร์มในช่วงที่มีการระบาดของโรค ทำการพักสัตว์ที่นำเข้ามาใหม่โดยเฉพาะสุกรสาวทดแทน และทำลายซากสัตว์ป่วยด้วยวิธีเผาและฝังเท่านั้น

ตารางที่ 4.2 ข้อมูลพื้นฐานของฟาร์มสุกรที่ส่งตรวจ

n = 90

ข้อมูลการจัดการฟาร์มของเกษตรกร	จำนวนฟาร์ม	ร้อยละ
ขนาดฟาร์ม		
- น้อยกว่า 50 ตัว	63	70.00
- ขนาด 51-100 ตัว	8	8.89
- ขนาด 100-500 ตัว	7	7.78
- มากกว่า 500 ตัว	1	1.11
- ไม่มีข้อมูล	11	12.22
กลุ่มสุกรในฟาร์ม		
- มีพ่อแม่พันธุ์	39	43.33
- มีเฉพาะสุกรอนุบาลและสุกรขุน	31	34.44
- ไม่สามารถระบุได้	20	22.22
โรงเรือน		
- เลี้ยงปล่อย	1	1.11
- โรงเรือนพื้นดิน	2	2.22
- โรงเรือนพื้นปูน	59	65.56
- โรงเรือนยกพื้นปูน	12	13.33
- โรงเรือนพื้นปูนกึ่งสแลท	3	3.33
- โรงเรือนพื้นสแลท	3	3.33
- โรงเรือน evaporation	1	1.11
- โรงเรือนมีวัสดุรองพื้น	1	1.11
- ไม่มีข้อมูล	8	8.89

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

n = 90

ข้อมูลการจัดการฟาร์มของเกษตรกร	จำนวนฟาร์ม	ร้อยละ
อาหาร		
- เศษอาหาร	6	6.67
- อาหารสำเร็จรูปจากบริษัท	50	55.56
- ใช้หัวอาหารผสมเอง	7	7.78
- ใช้ผสมกันระหว่างเศษอาหาร อาหารสำเร็จรูป หัวอาหารผสม และอื่นๆ	13	14.44
- ไม่มีข้อมูล	1	1.11
- ให้ผักบุ้งหรืออื่นๆ ผสมรำ	1	1.11
น้ำใช้ในฟาร์ม		
- บ่อน้ำ/บ่อบาดาล/น้ำบาดาล	22	24.44
- น้ำบาดาลผ่านการฆ่าเชื้อ	1	1.11
- น้ำประปา	51	56.67
- น้ำประปา และน้ำแหล่งอื่น	8	8.89
- ไม่มีข้อมูล	8	8.89

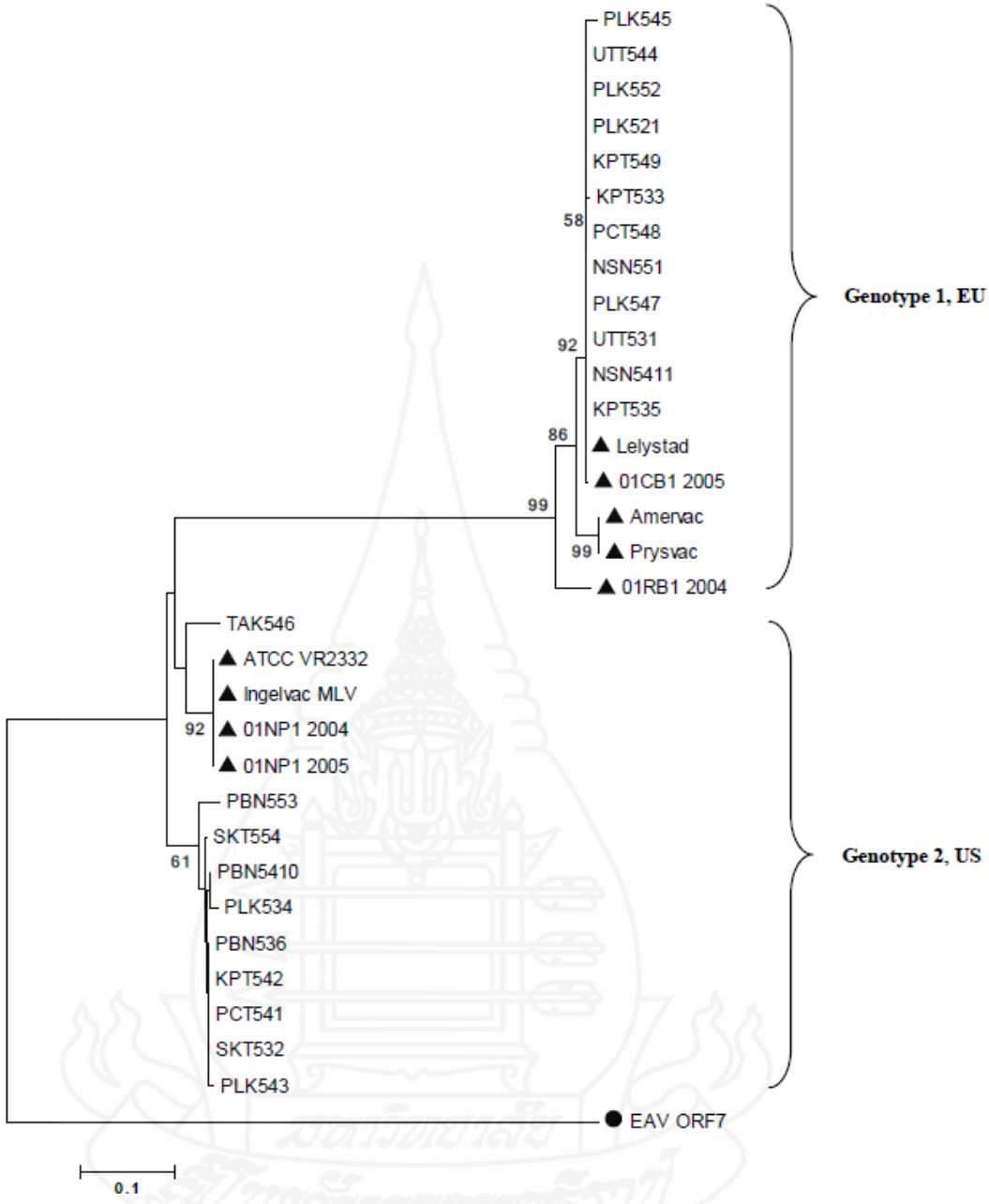
1.2 ข้อมูลพื้นฐานของฟาร์มสุกร

ข้อมูลพื้นฐานของฟาร์มสุกรที่มีปัญหาโรคพีอาร์อาร์เอสในระหว่าง พ.ศ. 2552 - 2555 เป็นฟาร์มสุกรจากจังหวัดพิษณุโลก 55 ฟาร์ม กำแพงเพชร 14 ฟาร์ม อุตรดิตถ์ 7 ฟาร์ม เพชรบูรณ์ 5 ฟาร์ม พิจิตร 4 ฟาร์ม นครสวรรค์ 2 ฟาร์ม สุโขทัย 2 ฟาร์ม และ ตาก 1 ฟาร์ม พบว่าส่วนใหญ่เป็นฟาร์มขนาดเล็กร้อยละ 86.67 ซึ่งเป็นฟาร์มที่มีประชากรสุกรน้อยกว่า 50 ตัว มากที่สุด (ร้อยละ 70.00) เป็นฟาร์มขนาดกลางร้อยละ 1.11 และไม่สามารถระบุขนาดฟาร์มได้อีกร้อยละ 12.22 ลักษณะ กลุ่มประชากรสุกรในฟาร์มมีทั้งฟาร์มที่มีพ่อแม่พันธุ์ และฟาร์มที่มีเฉพาะลูกสุกร ซึ่งมีสัดส่วนที่ใกล้เคียงกัน (ร้อยละ 39.00 และ ร้อยละ 31.00 ตามลำดับ) โรงเรือนโดยส่วนใหญ่เป็นโรงเรือนพื้นปูน (ร้อยละ 65.56) อาหารและน้ำที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นอาหารสำเร็จรูปจากบริษัท (ร้อยละ 55.56) และใช้น้ำประปาเป็นหลัก (ร้อยละ 56.67) ซึ่งสะดวกต่อการจัดการ ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 4.2 จากข้อมูลโครงสร้างพื้นฐานของฟาร์มสุกรในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างดังกล่าวที่สามารถดำเนินการจัดการควบคุมและป้องกันโรคในฟาร์มได้ง่ายเนื่องจากมีขนาดเล็ก พื้นที่ไม่มาก

โดยเฉพาะในส่วนของการควบคุม และทำลายเชื้อ อย่างไรก็ตามในกรณีของโรงเรือนที่เป็นพื้นดิน และการเลี้ยงปล่อยอาจจะต้องใช้มาตรการในการควบคุมทำลายเชื้อที่แตกต่างออกไป

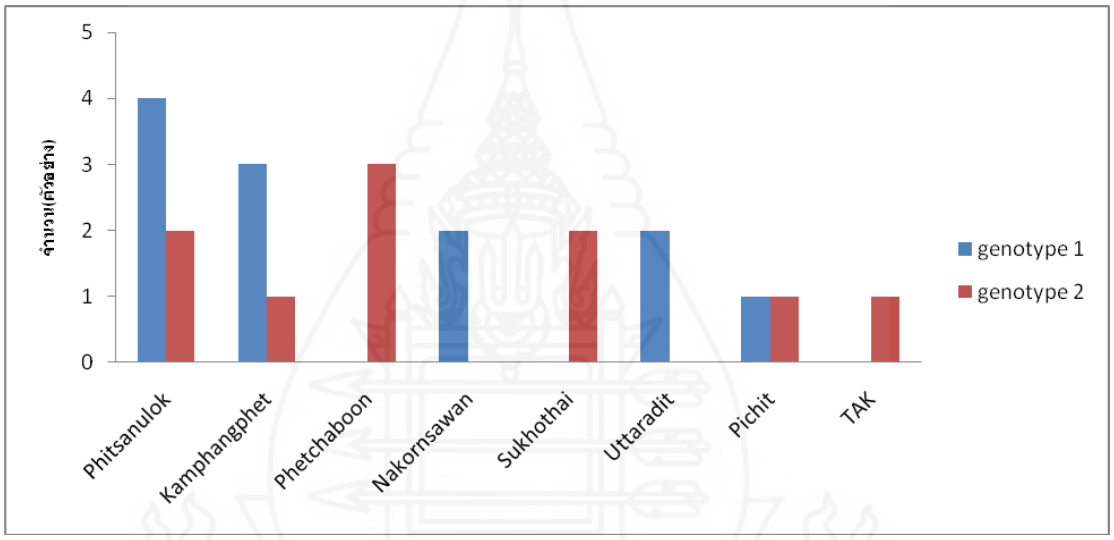
2. ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของยีน nucleocapsid protein ในตำแหน่ง ORF7 ของไวรัสพีอาร์อาร์เอส จากสุกรในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง ระหว่างปี 2552 - 2555 จำนวน 22 ตัวอย่าง โดยการตรวจหาลำดับสารพันธุกรรมในตำแหน่ง ORF7 เปรียบเทียบกับไวรัสต้นแบบและไวรัสวัคซีนในกลุ่ม genotype 1 (EU Strain/สายพันธุ์ยุโรป) คือ Lelystad virus และAmervac, Prysvac ตามลำดับ และ genotype 2 (NA/US Strain/สายพันธุ์อเมริกา) คือ ATCC VR2332 และ Ingelvac MLV ตามลำดับ โดยจากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของไวรัสพีอาร์อาร์เอส ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของยีน nucleocapsid protein (N gene) พบว่าในกลุ่ม genotype 1 เชื้อที่ตรวจพบในพื้นที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับไวรัสต้นแบบ (Lelystad virus) มากกว่ากลุ่มไวรัสวัคซีน ซึ่งเชื้อไวรัส genotype 1 ของทุกจังหวัดที่ศึกษามีความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการใกล้ชิดกัน ขณะที่ในกลุ่ม genotype 2 ไวรัสพีอาร์อาร์เอสต้นแบบ (ATCC VR-2332) มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับไวรัสวัคซีนมากกว่าเชื้อไวรัสในพื้นที่ที่ทำการศึกษา ดังแสดงในภาพที่ 4.1 ซึ่งเชื้อไวรัสในกลุ่ม genotype 2 พบว่า มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันในกลุ่มเชื้อที่พบในพื้นที่ มีเพียงเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่พบในจังหวัดตาก ปี 2554 (TAK546) ที่มีความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการใกล้ชิดกับเชื้อไวรัสต้นแบบ (ATCC VR-2332) และไวรัสวัคซีนแตกต่างจากเชื้อที่พบในจังหวัดอื่น ๆ ที่อยู่ใน genotype เดียวกัน



ภาพที่ 4.1 ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของยีน Nucleocapsid protein (N gene) ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง 22 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับเชื้ออ้างอิง 10 ตัวอย่างซึ่งมีสัญลักษณ์ ▲ และ ● ที่ด้านหน้าชื่อ ตามลำดับ โดยใช้ EAV ORF7 เป็น outgroup ของการวิเคราะห์ ทำการวิเคราะห์ด้วย Neighbor-Joining method Kimura's 2-parameter model โดยค่า Bootstrap value (1,000) ที่มีค่ามากกว่า ร้อยละ 50 จะระบุที่ตำแหน่งมุมของ branches

จากการตรวจยืนยันเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสทั้งหมด 22 ตัวอย่างด้วยวิธีตรวจหาลำดับสารพันธุกรรมพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส สายพันธุ์ EU; genotype 1 จำนวน 12 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 54.55 และสายพันธุ์ US; genotype 2 จำนวน 10 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 45.45 ซึ่งมีการกระจายตัวของการพบโรคในแต่ละจังหวัดดังแสดงในภาพที่ 4.2 ซึ่งเมื่อนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างของสัดส่วนการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ชนิดสายพันธุ์ US และสายพันธุ์ EU โดยใช้สถิติเชิงวิเคราะห์ Chi-Square Test พบว่า ตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ EU มากกว่า สายพันธุ์ US อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยตัวอย่างสุ่มตรวจที่ใช้ศึกษามาจากจังหวัดพิษณุโลกมากที่สุด สัมพันธ์กับความถี่ในการส่งตัวอย่างเพื่อตรวจวินิจฉัยที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง



ภาพที่ 4.2 สายพันธุ์ไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่ตรวจพบในแต่ละจังหวัดจากตัวอย่างการศึกษา

3. แนวทางการควบคุมและป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสด้วยวัคซีนในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง

จากการวิเคราะห์ข้อมูลในการจัดการฟาร์มของเกษตรกรในเขตพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างประกอบกับข้อมูลพื้นฐานและข้อมูลลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอสของซากสัตว์ป่วยที่ส่งตรวจวินิจฉัยสามารถจำแนกประเด็นปัญหาโรคพีอาร์อาร์เอสเพื่อใช้ในการพัฒนาแนวทางการควบคุมป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสโดยการใช้วัคซีน ได้ดังนี้

3.1 ก่อน พ.ศ. 2552 พื้นที่ภาคเหนือตอนล่างในฟาร์มขนาดเล็กของเกษตรกรรายย่อยไม่เคยมีรายงานการตรวจพบโรคพีอาร์อาร์เอสทำให้เกษตรกรไม่มีประสบการณ์เกี่ยวกับโรคนี้รวมถึงความรู้เกี่ยวกับโรค

3.2 ฟาร์มสุกรที่มีปัญหาโรคพีอาร์อาร์เอสในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างส่วนใหญ่เป็นกลุ่มลูกสุกรจนถึงช่วงขึ้นขุน โดยเฉพาะในกลุ่มสุกรอนุบาลอายุ 4 - 6 สัปดาห์ซึ่งเป็นช่วงไวรับต่อการติดเชื้อ

3.3 ขนาดของฟาร์มที่มีปัญหาโรคพีอาร์อาร์เอสเป็นฟาร์มขนาดเล็ก ซึ่งกลุ่มที่พบปัญหามากที่สุดเป็นฟาร์มที่มีขนาดสุกรน้อยกว่า 50 ตัว ซึ่งในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่จะเป็นฟาร์มที่เน้นกิจกรรมการเลี้ยงสุกรขุน

3.4 กลุ่มสุกรในฟาร์มที่มีปัญหาโรคพีอาร์อาร์เอสในพื้นที่นี้มีสัดส่วนระหว่างฟาร์มที่มีพ่อแม่พันธุ์กับฟาร์มที่มีเฉพาะสุกรอนุบาลและสุกรขุนที่ใกล้เคียงกัน ในฟาร์มที่มีพ่อแม่พันธุ์ส่วนใหญ่มีจำนวน 1 - 10 ตัว (27/39) ซึ่งมีเพียง 9 ฟาร์มที่มีพ่อพันธุ์ไว้ใช้ และในฟาร์มที่มีเฉพาะสุกรอนุบาลและสุกรขุนส่วนใหญ่เป็นฟาร์มที่มีขนาดสุกรน้อยกว่า 50 ตัว (29/31)

3.5 ในป้องกันโรคให้กับสุกรในฟาร์มโดยส่วนใหญ่เน้นการทำวัคซีน อย่างไรก็ตามแม้จะมีการทำวัคซีนแต่การทำวัคซีนเน้นเฉพาะการทำวัคซีนโรคอหิวาต์สุกรเป็นหลัก และวัคซีนโรคพีอาร์อาร์เอสเพิ่งมีการใช้ในฟาร์มบ้างในช่วง พ.ศ. 2553 หลังเริ่มพบการระบาดของโรค ซึ่งอาจจะมีสาเหตุมากจากเกษตรกรขาดความรู้เกี่ยวกับการป้องกันโรคโดยใช้วัคซีนและการบริหารวัคซีน และวัคซีนป้องกันโรคอหิวาต์สุกรมีราคาถูกและหาซื้อได้ง่าย

3.6 ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่พบในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง พบว่ามีการกระจายตัวของเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ ดังนั้นในการเลือกใช้วัคซีนเพื่อใช้ในการป้องกันควบคุมโรคจึงควรมีการตรวจยืนยันสายพันธุ์ของเชื้อเพื่อให้ใช้สายพันธุ์วัคซีนให้ตรงกับสายพันธุ์ในฟาร์มหรือพื้นที่ที่ต้องการนำใช้

3.7 จากข้อมูลที่ได้จากการศึกษายังขาดข้อมูลในส่วนของการจัดการระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ (Biosecurity) ของฟาร์มสุกรที่พบปัญหาโรคพีอาร์อาร์เอส

บทที่ 5
สรุปการวิจัย อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาค้นคว้าอิสระ เรื่องการวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของไวรัสพีอาร์อาร์เอสเพื่อการควบคุมและป้องกันโรคด้วยวัคซีนในเขตภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย มีวัตถุประสงค์การวิจัย (1) เพื่อศึกษาข้อมูลพื้นฐานของซากสุกรและฟาร์มสุกร (2) เพื่อศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส และ (3) เพื่อศึกษาแนวทางการควบคุมและป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสด้วยวัคซีนในเขตภาคเหนือตอนล่าง ประชากรที่ใช้ในการวิจัย คือ ซากสุกรจากฟาร์มสุกรในเขตภาคเหนือตอนล่าง กำหนดกลุ่มตัวอย่างจากซากสุกรจากฟาร์มสุกรในเขตภาคเหนือตอนล่างที่ให้ผลบวกต่อการตรวจชันสูตรโรคพีอาร์อาร์เอส ด้วยการเลือกแบบเจาะจง 22 ตัวอย่าง เพื่อยืนยันสายพันธุ์ไวรัสพีอาร์อาร์เอส โดยการตรวจหาลำดับสารพันธุกรรมของไวรัส วิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานของตัวอย่าง ข้อมูลทั่วไปของจากฟาร์มที่ส่งตัวอย่างจำนวน 90 ฟาร์ม ใช้ค่าร้อยละ วิเคราะห์ข้อมูลลำดับสารพันธุกรรมด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป และวิเคราะห์ข้อมูลการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ด้วยสถิติเชิงพรรณนา เช่น สัดส่วน ร้อยละ และ Chi-Square Test ทดสอบความแตกต่างของสัดส่วนการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสต่างสายพันธุ์

1. สรุปการวิจัย

1.1 ตัวอย่างซากสุกรที่ป่วยตายในช่วง พ.ศ. 2552 - 2555 เป็นสุกรอายุ 4 - 6 สัปดาห์ พันธุ์ลูกผสมและเป็นสัตว์ที่มีอยู่เดิมในฟาร์ม มีการทำวัคซีนเพื่อป้องกันโรคโดยเน้นที่โรคอหิวาต์สุกรเป็นหลัก แต่การบริหารวัคซีนแก่สัตว์นำเข้าใหม่ในช่วงสัปดาห์แรกของการนำสัตว์เข้าใหม่มีผลให้สัตว์เกิดความเครียดและป่วยได้ วัคซีนพีอาร์อาร์เอสเริ่มมีการใช้เพิ่มมากขึ้นใน พ.ศ. 2554 หลังช่วงการะบาดของโรคซึ่งเน้นการใช้ในแม่พันธุ์

ตัวอย่างสุกรในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างที่ทำการศึกษามาจากฟาร์มขนาดเล็ก ส่วนใหญ่ขนาดไม่เกิน 500 ตัว มีลักษณะของโรงเรือนเป็นพื้นปูน ใช้อาหารสำเร็จรูป และการใช้น้ำประปาซึ่งสะดวกต่อการจัดการฟาร์ม และจากข้อมูลโครงสร้างพื้นฐานของฟาร์มสุกรสามารถดำเนินการจัดการควบคุมและป้องกันโรคในฟาร์มได้ง่ายเนื่องจากมีขนาดเล็ก พื้นที่ไม่มาก โดยเฉพาะในส่วนของการควบคุมและทำลายเชื้อ

1.2 ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่ตรวจพบในภาคเหนือตอนล่าง ระหว่าง พ.ศ. 2552 - 2555 ทำการวิเคราะห์ในตำแหน่งของ ORF7 ของเชื้อไวรัสซึ่งเป็นส่วนของยีน nucleocapsid protein และเป็นส่วนที่มีลักษณะการอนุรักษ์ พบว่าไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่พบในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างเป็นเชื้อสายพันธุ์ยุโรปมากกว่าสายพันธุ์อเมริกาอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$)

1.3 แนวทางการควบคุมและป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสด้วยวัคซีนในเขตภาคเหนือตอนล่าง มีประเด็นสำคัญ ดังนี้

1.3.1 การให้ความรู้เกี่ยวกับโรคพีอาร์อาร์เอส และข้อจำกัดของการใช้วัคซีนพีอาร์อาร์เอสในสุกรกลุ่มต่าง ๆ เนื่องจากพื้นที่นี้เกษตรกรมีประสบการณ์เกี่ยวกับโรคพีอาร์อาร์เอสค่อนข้างน้อย โดยเฉพาะในกลุ่มเกษตรกรรายย่อยรวมถึงวิธีการบริหารวัคซีนที่ถูกต้องเพื่อให้สัตว์เกิดการสร้างภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันโรคได้ และมีการทบทวนความรู้ในการควบคุมป้องกันโรคให้แก่เกษตรกรในพื้นที่อย่างสม่ำเสมอ เน้นย้ำระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ (Biosecurity) โดยเฉพาะในพื้นที่ที่เคยมีการระบาดของโรค เนื่องจากเกษตรกรรายย่อยที่เป็นฟาร์มขนาดเล็กส่วนใหญ่มีลักษณะการเลี้ยงสุกรตามสภาวะเศรษฐกิจ

1.3.2 ตรวจยืนยันสถานภาพของโรคในฟาร์ม/พื้นที่ โดยมีการเก็บตัวอย่างส่งตรวจวินิจฉัยยืนยันการพบเชื้อทางห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้ในการตัดสินใจเลือกวัคซีนสายพันธุ์ที่ตรงกับเชื้อในพื้นที่ฟาร์ม เนื่องจากวัคซีนแต่ละสายพันธุ์ไม่มีการสร้างภูมิคุ้มกันข้ามสายพันธุ์ (cross-immunity) ซึ่งจากการวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่พบในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างในบางจังหวัดพบเชื้อสาเหตุของโรคเพียงสายพันธุ์เดียวได้แก่ จังหวัดตาก นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ สุโขทัย และอุตรดิตถ์

1.3.3 เลือกใช้วัคซีนพีอาร์อาร์เอสที่มีสายพันธุ์ตรงกับเชื้อที่มีการตรวจพบในฟาร์ม/พื้นที่ เพื่อให้สัตว์มีการสร้างภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันโรคได้ และเลือกใช้วัคซีนที่ผ่านการขึ้นทะเบียนรับรองอนุญาตให้มีการใช้ได้ในประเทศจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เนื่องจากวัคซีนที่ไม่ได้รับการขึ้นทะเบียนในประเทศยังไม่ผ่านขั้นตอนการทดสอบคุณภาพและความปลอดภัยของวัคซีน

1.3.4 กรณีการตรวจพบโรคระบาดในฟาร์มหรือพื้นที่ที่ไม่เคยมีอุบัติการณ์การเกิดโรคมาก่อน ในการเลือกใช้วัคซีนเชื้อเป็นเพื่อควบคุมโรคควรเก็บตัวอย่างในพื้นที่ส่งตรวจยืนยันเชื้อว่าเป็นสายพันธุ์ใด หรือในกรณีที่ไม่สามารถส่งตรวจทางห้องปฏิบัติการได้ให้พิจารณาเลือกใช้วัคซีนที่มีสายพันธุ์ตรงกับสายพันธุ์ที่มีการตรวจพบในพื้นที่ใกล้เคียง

2. อภิปรายผล

พื้นที่ภาคเหนือตอนล่างเริ่มมีการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธีลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR) ใน พ.ศ. 2552 จากที่กรมปศุสัตว์ได้มอบหมายภารกิจให้ห้องปฏิบัติการในสังกัดมีการเฝ้าระวังโรคพีอาร์อาร์เอส หลังจากเกิดการระบาดของโรคอย่างรุนแรงในประเทศจีนและเวียดนามใน พ.ศ. 2549 ซึ่งหลังจากการเฝ้าระวังทางห้องปฏิบัติการมาระยะหนึ่งก็เริ่มพบการระบาดในจังหวัดขอนแก่นเมื่อ พ.ศ. 2550 และใน พ.ศ. 2553 พบในจังหวัดหนองคายและพิษณุโลก (กิติภัทท์ สุจิต และ เสกสิทธิ์ สิงห์แจ่ม 2553) จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของไวรัสพีอาร์อาร์เอสในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของยีน nucleocapsid protein (N gene) เชื้อในกลุ่ม genotype 1 ที่ตรวจพบในพื้นที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับไวรัสต้นแบบ (Lelystad virus) มากกว่ากลุ่มไวรัสวัคซีน ขณะที่ในกลุ่ม genotype 2 ไวรัสพีอาร์อาร์เอสต้นแบบ (ATCC VR-2332) มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับไวรัสวัคซีนมากกว่าเชื้อไวรัสในพื้นที่ที่ทำการศึกษา ซึ่งมีข้อมูลการศึกษาคล้ายคลึงกับการศึกษาของ Amonsin, Kedkovid and Puranaveja (2009) และ Tun, Shi and Wong (2011) ที่ได้มีการศึกษาความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของเชื้อกลุ่ม genotype 2 แบบ complete nucleotide sequence แต่มีข้อมูลแตกต่างจากการของศึกษาของ Thanawongnuewech and others (2004) ที่ได้ศึกษาเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในประเทศโดยพบว่ากลุ่มเชื้อสายพันธุ์ยุโรปของประเทศไทยที่แยกเชื้อได้มีลำดับกรดนิวคลิอิกใกล้เคียงกับไวรัสกลุ่มวัคซีนสายพันธุ์ยุโรป ซึ่งข้อมูลที่ได้จากการศึกษาวิเคราะห์ วิจัยความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสนี้สามารถนำไปพัฒนาแนวทางในการควบคุมโรคโดยการใช้วัคซีนได้ เนื่องจากทั้งวัคซีนเชื้อเป็นและวัคซีนเชื้อตายที่นำมาใช้สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งหากไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่ก่อโรคเป็นไวรัสที่มีความใกล้เคียงทางพันธุกรรมกับไวรัสวัคซีนที่ใช้ ซึ่งในยุโรปเองการฉีดวัคซีนถือเป็นหนึ่งในกลยุทธ์ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการป้องกันและการควบคุม PRRS (Papatsiros, 2012) อย่างไรก็ตามไม่ว่าจะเป็นวัคซีนหรือการติดเชื้อโดยธรรมชาติไม่สามารถให้ความคุ้มโรคข้ามสายพันธุ์ได้ (รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช 2548)

จากการศึกษาประสิทธิภาพของวัคซีนชนิด Autogenous vaccine เปรียบเทียบกับ commercial vaccine ของ Geldhof and others (2012) พบว่า วัคซีนเชื้อตายทั้งชนิด autogenous vaccine และ commercial vaccine รวมถึงวัคซีนเชื้อเป็น commercial vaccine ที่มีสายพันธุ์เดียวกับเชื้อไวรัสที่ได้รับ ให้ผลในการลดภาวะติดเชื้อไวรัสในกระแสเลือดให้สั้นลง และจากการศึกษาของ Zuckermann and others (2007) พบว่า มีเพียงวัคซีนเชื้อเป็นเท่านั้นที่มีความสามารถในการสร้างภูมิคุ้มกันจากการวัดปริมาณไวรัสในกระแสเลือดและเนื้อเยื่อ แต่ในกลุ่มที่ได้รับวัคซีนเชื้อตายชนิด

ต่างสายพันธุ์ไม่พบว่ามีผลต่อภาวะติดเชื้อไวรัสในกระแสเลือด อย่างไรก็ตามในการนำวัคซีนมาใช้ในการควบคุมป้องกันโรคต้องคำนึงถึงปัจจัยอื่น ๆ นอกจากสายพันธุ์ของเชื้อไวรัสที่ก่อให้เกิดโรค เนื่องจากการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของสุกรต่อไวรัสพีอาร์อาร์เอสมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ทั้งจากภูมิคุ้มกันโดยธรรมชาติของสุกรแต่ละตัว ขนาดของประชากรสุกร ประสิทธิภาพของภูมิคุ้มโรคต่อลักษณะพันธุกรรมของเชื้อพีอาร์อาร์เอสที่แยกได้ เพศ พันธุ์ อายุ รวมถึงปัจจัยอื่น ๆ ของโฮสต์ที่มีผลต่อภูมิคุ้มกันในการตอบสนองต่อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและความเป็นไปได้ในการกดภูมิคุ้มกันของสุกรโดยเชื้อโรคชนิดอื่น (Michael, 2002) นอกจากนี้การให้วัคซีนที่ไม่ได้ผลมักเกิดจากการมองข้ามปัจจัยภายในตัวสัตว์ เช่น สัตว์มีภูมิคุ้มกันถ่ายทอดจากแม่สูงซึ่งมีผลรบกวนประสิทธิภาพของวัคซีน สัตว์มีภาวะเครียดจากสภาพแวดล้อม หรือสภาวะทางกายภาพ เช่น ตั้งท้อง เจ็บป่วย ขาดอาหาร น้ำ เป็นต้น ซึ่งมีผลทำให้ความสามารถในการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันลดลง (สันนิภา สุรทัตต์ 2549) ทั้งนี้โดยตัววัคซีนพีอาร์อาร์เอสเองยังมีข้อจำกัดในการใช้ซึ่งเกษตรกรจะต้องคำนึงถึง เช่น วัคซีนเชื้อตาย มีประสิทธิภาพที่จำกัด เนื่องจากกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของสุกรได้ต่ำและไม่มีการเหนี่ยวนำที่มีประสิทธิภาพต่อแอนติบอดีที่มีหน้าที่ทำลายเชื้อ ขณะที่วัคซีนเชื้อเป็นให้ผลในการป้องกันที่มีประสิทธิภาพจำเพาะกับสายพันธุ์ และสามารถป้องกันโรคจากเชื้อต่างสายพันธุ์ได้เพียงบางส่วน และกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองค่อนข้างช้าของภูมิคุ้มกันชนิด humoral และ CMI ที่นำไปสู่การป้องกันที่ล่าช้า นอกจากนี้ยังอาจรบกวนประสิทธิภาพของวัคซีนชนิดอื่น เช่น วัคซีนป้องกัน *Mycoplasma hyopneumoniae* (Charerntantanakul, 2012)

การควบคุมและป้องกันการติดโรคพีอาร์อาร์เอสทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากในการจัดการฟาร์มสุกรมีปัจจัยในทางปฏิบัติหลายอย่าง ซึ่งทำได้ยากกว่าการจัดการสุกรหนึ่งตัว และในฝูงสุกรยังมีสุกรที่ติดเชื้อหลายระยะ ซึ่งทำให้มีการเพิ่มจำนวนของไวรัสเป็นลูกโซ่ต่อไปในฝูงสุกร (รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช 2548) เป็นผลของการติดเชื้อคงอยู่นานในสุกรที่เป็นพาหะ (carrier) ร่วมกับการที่มีสุกรไวรับต่อการติดเชื้อ เกิดขึ้นและหมุนเวียนอยู่ตลอดเวลาในระบบการผลิตของฟาร์ม (กิจจา อุไรรงค์ 2555) จากการศึกษาของ Tun, Shi and Wong (2011) ได้เสนอแนะกลยุทธ์ในการควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอสในประเทศไทย ได้แก่

1. หลีกเลี่ยงการฉีดวัคซีนแบบสุ่มและให้ใช้วัคซีนที่ผลิตขึ้นมาสอดคล้องกับเชื้อเป้าหมาย

2. มีการตรวจเฝ้าระวังการนำเข้าสุกรและการเคลื่อนย้ายเพื่อควบคุมการแพร่กระจายของเชื้อในฝูง โดยเมื่อพบการแพร่กระจายของเชื้อในฝูงจากการตรวจทางซีรั่มวิทยาควรหยุดการนำสุกรสาวเข้าทดแทนเป็นเวลา 4 - 6 เดือน เพื่อทำให้ระดับของภูมิคุ้มโรคในฝูงคงที่ (Nilubol and Thacker, 2002)

3. การดำเนินการความปลอดภัยทางชีวภาพที่ดีขึ้นจะช่วยลดการแพร่กระจายของเชื้อแบบ horizontal ซึ่งจะช่วยให้การควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอสในประเทศไทยให้มีประสิทธิภาพ

ข้อมูลจากการศึกษาพบว่าฟาร์มที่ได้รับผลกระทบจากการเกิดโรคพีอาร์อาร์เอสในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างเป็นฟาร์มขนาดเล็ก ซึ่งได้รับผลกระทบจากการเกิดโรคระบาดมากที่สุด คล้ายคลึงกับการศึกษาของ ศุภธิดา ภิเศก, ประกิจ ศรีใสย์ และ คมวุฒิ ธรรมสาร์ (2554) ในการดำเนินการควบคุมโรคเพื่อป้องกันการแพร่กระจาย การระบาดของโรคจึงควรดำเนินมาตรการต่าง ๆ ที่รวดเร็วและทันท่วงทีซึ่งจะทำให้ความสูญเสียจากการระบาดของโรคลดลง

3. ข้อเสนอแนะ

3.1 การใช้วัคซีนพีอาร์อาร์เอสในฟาร์มสุกรถือเป็นมาตรการหนึ่งในการควบคุมป้องกันโรค ควรมีการพัฒนาระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ (Biosecurity) ของฟาร์มไปพร้อม ๆ กัน เนื่องจากการใช้วัคซีนเพียงมาตรการเดียวในการควบคุมป้องกันโรคนั้นไม่เพียงพอต่อการควบคุมป้องกันโรคให้มีประสิทธิภาพ จากการที่วัคซีนพีอาร์อาร์เอสยังมีข้อจำกัดในการใช้ โดยเฉพาะในวัคซีนเชื้อเป็นที่สามารถแฝงอยู่ในร่างกายสุกรได้นานหลายสัปดาห์ หรือบางครั้งนานหลายเดือน และมีความสามารถผ่านรกทำให้เกิดการถ่ายทอดผ่านชั่วรุ่นไปยังลูกสุกรได้ รวมถึงฟาร์มสุกรในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างมีลักษณะเอื้อให้เกิดการแพร่กระจายของเชื้อพีอาร์อาร์เอส เนื่องจากส่วนใหญ่เป็นฟาร์มสุกรขนาดเล็ก เลี้ยงหลังบ้านและตั้งอยู่ในชุมชน ซึ่งมักไม่มีพื้นที่ในการป้องกันและกำจัดเชื้อโรคที่อาจจะติดมากับบุคคลและยานพาหนะต่าง ๆ ที่จะเข้าสู่ฟาร์ม ดังนั้นการพัฒนาระบบความปลอดภัยทางชีวภาพของฟาร์มจะช่วยให้ระบบการป้องกันและควบคุมโรคมีประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้น

3.2 การใช้วัคซีนโรคพีอาร์อาร์เอสที่มีขายอยู่ในท้องตลาด ขั้นตอนในการใช้งาน การเก็บรักษา และข้อควรระวังต่าง ๆ ควรปฏิบัติตามที่บริษัทผู้ผลิตแนะนำมาในเอกสารกำกับยาเพื่อให้การใช้วัคซีนเกิดประสิทธิภาพสูงสุด และเกิดผลข้างเคียงจากการใช้วัคซีนนั้น ๆ น้อยที่สุด ทั้งนี้ในการใช้วัคซีนโรคอื่น ๆ ก็ควรปฏิบัติเช่นเดียวกัน

3.3 เมื่อตัดสินใจเลือกการใช้วัคซีนเป็นวิธีการในการป้องกันโรคในฟาร์มแล้ว ควรมีการใช้วัคซีนอย่างสม่ำเสมอตามโปรแกรม เพื่อให้สัตว์ในฟาร์มมีระดับภูมิคุ้มกันที่เพียงพอต่อการป้องกันโรค โดยเฉพาะในสัตว์พ่อแม่พันธุ์ควรมีการตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอาร์อาร์เอสอย่างสม่ำเสมอ เพื่อป้องกันการกระจายเชื้อภายในฟาร์มจากการติดเชื้อแบบแฝงและการถ่ายทอดเชื้อผ่านชั่วรุ่น และในพ่อแม่พันธุ์ทดแทนควรมีการตรวจวัดระดับภูมิคุ้มกันก่อนนำเข้าฝูง

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กิจจา อุไรรงค์ (2555) *โรคติดเชื้อไวรัสสุกรภาคปฏิบัติ (Viral diseases of swine in Practice)* พิมพ์ครั้งที่ 1 กรุงเทพมหานคร บริษัท วี พริ้นท์ (1991) จำกัด หน้า 67 - 105

กิติภัทท์ สุจิต และ เสกสิทธิ์ สิงห์แจ่ม (2553) "การระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอสในฟาร์มสุกรรายย่อยจังหวัดพิษณุโลก *กันยายน - ธันวาคม 2553*" *ข่าวศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง* 8, 28: 7 – 14

"พระราชบัญญัติโรคระบาดสัตว์ พ.ศ. 2499" (2554, 15 สิงหาคม) *ราชกิจจานุเบกษาฉบับกฤษฎีกา* เล่ม 128 ตอน 64 ก หน้า 4

รุ่งโรจน์ ธนาวงษ์นุเวช (2548) *พยาธิวินิจฉัยโรคพีอาร์อาร์เอส* กรุงเทพมหานคร ปอยท์ กราฟิก

ศุภธิดา ภิเศก ประกิจ ศรีใสย์ และ คมวุฒิ ธรรมสาร์ (2554) "การสอบสวนการตายเฉียบพลันของสุกรในจังหวัดมหาสารคาม *ตุลาคม 2553*" *จุลสารสำนักควบคุมป้องกันและบำบัดโรคสัตว์* 18: 4 – 7

สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ (2549) *โรคสัตว์เล็ก: สุกร* กรุงเทพมหานคร กรมปศุสัตว์

สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย (2554) *แนวทางการปฏิบัติงานทางคลินิกต่อปัญหาโรค PRRS ในประเทศไทย ปรับปรุงครั้งที่ 3* กรุงเทพมหานคร สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย

สันนิภา สุรทัตต์ (2549) *วิทยาภูมิคุ้มกันทางสัตวแพทย์ภาคปฏิบัติ* กรุงเทพมหานคร โรงพิมพ์ตีรณสาร

สุดารัตน์ ดำรงวัฒนโภคิน (2539) "มารู้จักโรคพีอาร์อาร์เอสกันเถอะ" *สัตวแพทยสาร* 47,2: 13 – 17

สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (2556) "FDA ข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์" ค้นคืนวันที่ 1 เมษายน 2556 จาก http://www.app1.fda.moph.go.th/consumer/conframe.asp

อลงกต บุญสูงเนิน นรุตม์ ทะนานทอง ภาณุวัฒน์ แย้มสกุล ดาบศึก วังบรรณ์ ปริวรรต พูลเพิ่ม ปรียพันธุ์ อุดมประเสริฐ และ กิจจา อุไรรงค์ (2546) "การระบาดของพีอาร์อาร์เอสไวรัสในฟาร์มสุกร Stable inactive herd: รายงานสัตว์ป่วย" ใน *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41: สาขาสัตว์ สาขาสัตวแพทยศาสตร์* กรุงเทพมหานคร หน้า 618 - 625

Albina, E. (1997). "Epidemiology of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS): an overview." *Veterinary Microbiology*. 55: 309 – 316.

Amonsin, A., Kedkovid, R. and Puranaveja, S. (2009). "Comparative analysis of complete nucleotide sequence of porcinereproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) isolates in Thailand (US and EU genotypes)." *Virology Journal*. 6: 143.

Benfield, D.A., Collins, J.E., Dee, S.A., Halbur, P.G., Joo, H.S., Larger, K.M., Mengeling, W.L., Murtaugh, M.P., Rossow, K.D., Stevenson, G.W., and Zimmerman, J.J. (1999). "Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome." In Straw, B.E., Allaire, S.D Mengelingand, W.L. and Taylor, D.J. *Diseases of swine*. Iowa: Iowa State University Press. pp. 201 – 232.

Charerntantanakul, W. (2012). "Porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccines: Immunogenicity, efficacy and safety aspects." *World J Virol*. 1, 1: 23 - 30. Retrieved March 2, 2014, from http://www.wjgnet.com/2220-249/journal/v1/i1/.

Damrongwatanapokin, S., Arsayuth, K. and Kongkrong, C. (1996). "Serological studies and isolation of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus in Thailand." *Thai Vet Med Assoc*. 47, 2: 19 – 31.

Edgar, R.C. (2004). "MUSCLE: Multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput." *Nucleic Acids Research*. 32, 5: 1792 – 1797.

Geldhof, Marc F., Vanhee, M., Breedam, Wander, V., Doorsselaere, Jan V., Karniychuk, Uladzimir, U. and Nauwynck, Hans J. (2012). "Comparison of the efficacy of autogenous inactivated Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV) vaccines with that of commercial vaccines against homologous and heterologous challenges." *BMC Veterinary Research*. 8: 182. Retrieved March 2, 2014, from http://www.biomedcentral.com/1746-6148/8/182.

Hall, T.A. (1999). "BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT." *Nucl. Acids. Symp*. Ser. 41: 95 – 98.

Kedkovid, R., Nuntawan Na Ayudhya, S., Amonsin, A. and Thanawongnuwech, R. (2010). "NSP2 gene variation of the North American genotype of the Thai PRRSV in central Thailand." *Virology Journal*. 7: 340.

Mardassi, H., Wilson, L., Mounir, S. and Dea, S. (1994). "Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and efficient differentiation between Canadian and European strains by reverse transcription and PCR amplification." *Journal of Clinical Microbiology*. 32, 9: 2197 – 2203.

Michael, P.M., Zhengguo, X. and Federico, Z. (2002). "Immunological responses of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection." *Viral Immunology.* 15, 4: 533 – 547.

National Center for Biotechnology Information. (2013). "GenBank." Retrived March 15, 2012, from http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/

Nilubol, D. and Thacker, B. (2002). "The introduction of reproduction of porcine reproductive and respiratory syndrome Virus (PRRSV) seronegative replacement into PRRSV-seropositive herds." *Thai J. Vet. Med*. 32 (Supplement): 107 – 112.

Nilubol, D., Tripipat, T., Hoonsuwan, T. and Kortheerakul, K. (2012). "Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus, Thailand, 2010 – 2011." *Emerging Infectious Diseases.* 18, 12: 2039 – 2043. Retrieved March 2, 2014, from www.cdc.gov/eid.

Papatsiros, V.G. (2012). "Porcine respiratory and reproductive syndrome virus vaccinology: A review for commercial vaccines." *Am. J. Anim. Vet. Sci.* 7: 149 – 158.

Tamura, K., Peterson, D. and Peterson, N. (2011). "MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods." *Molecular Biology and Evolution.* 28: 2731 – 2739.

Thanawongnuwech, R., Amonsin, A., Tatsanakit, A. and Damrongwatanapokin, S. (2004). "Genetics and geographical variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) in Thailand." *Vet. Microbiol*. 101: 9 – 21.

Tun, H.M., Shi, M. and Wong, C.L.Y. (2011). "Genetic diversity and multiple introductions of porcine reproductive and respiratory syndrome viruses in Thailand." *Virology Journal*. 8: 164.

Yoon, S. H., Song, J.Y. and Lee, C.H. (2008). "Genetic characterization of the Korean porcine Reproductive and respiratory syndrome viruses based on the nucleocapsid protein gene (ORF7) sequences." *Arch Virol*. 153: 627 – 635.

Zimmerman, J., Benfield, D.A., Murtaugh, M.P., Osorio, F., Stevenson, G.W. and Torremorell, M. (2006). "Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (Porcine Arterivirus.)" In Straw, B.E, Zimmerman, J.J, Allaire, S.D. and Taylor, D.J. *Diseases of Swine*. Washington: Blackwell Publishing. pp. 387 – 418.

Zuckermann, Federico A., Garcia, Esther, A., Luque, Ivan D., Hennings, Jane C., Doster, A., Brito, M. and Osorio, F. (2007). "Assessment of the efficacy of commercial porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccines based on measurement of serologic response, frequency of gamma-IFN-producing cells and virological parameters of protection upon challenge." *Vet. Microbiol*. 123: 69 – 85.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

แบบฟอร์มรับตัวอย่างเพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการกลุ่มชันสูตรโรคสัตว์

แบบฟอร์มรับตัวอย่างเพื่อตรวจทางห้องปฏิบัติการกลุ่มชันสูตรโรคสัตว์
ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง โทร. 0 - 5531- 2072

เลขที่ตัวอย่าง.....
วันที่รับตัวอย่าง.....เวลา.....น.

ชื่อเจ้าของ.....
ทะเบียนฟาร์ม.....
ที่ตั้งฟาร์ม..... .....
.... โทร.....

ประเภท
( ) ชันสูตร ( ) สำรวจ/เฝ้าระวัง ( ) วิจัย/โครงการ
( ) ทดสอบโรค ( ) ติดตาม.....
( ) อ้างอิง.....
( ) มาตรฐานฟาร์ม/สินค้าปศุสัตว์

ชื่อผู้ส่ง..... ....
ที่อยู่..... .....
.....โทร.....

ชนิดสัตว์
( ) โค (เนื้อ/นม) ( ) สุกร ( ) ไก่ (เนื้อ/ไข่/พ่อแม่พันธุ์/พื้นเมือง)
( ) กระบือ (เนื้อ/นม) ( ) ม้า ( ) เป็ด (เนื้อ/ไข่/พ่อแม่พันธุ์)
( ) แพะ (เนื้อ/นม) ( ) แกะ ( ) อื่น ๆ.....

กลุ่มชันสูตรโรคสัตว์ ( ) Field Test
( ) พิษวิทยาและชีวเคมี ( ) ปาราสิตวิทยา
( ) แบคทีเรียและเชื้อราวิทยา ( ) ไวรัสวิทยา
( ) อิมมูนและซีรั่มวิทยา ( ) พยาธิวิทยา

จำนวนสัตว์ที่ส่งตรวจ.....ตัว ชนิดของตัวอย่าง :
( ) สัตว์มีชีวิต.....ตัว ( ) เลือด.....ตย. ( ) เลือดป้ายสไลด์.....ตย. ( ) น้ำนม.....ตย.
( ) ซาก.....ตัว ( ) อวัยวะ.....ตย. ( ) ซีรั่ม.....ตย. ( ) อุจจาระ.....ตย.
( ) Swab.....ตย. ( ) เยื่อแผล ☐ ลิ้น ☐ เหงือก ☐ กีบ ☐ จมูก.....ตย. ( ) อื่น ๆ.....ตย.

☐ ไม่มีข้อมูล ลักษณะสัตว์ที่ส่งตรวจ อายุ.....เพศ.....พันธุ์.....หมายเลข.....

☐ ไม่มีข้อมูล ประวัติการนำเข้า ( ) เป็นสัตว์ที่มีอยู่เดิม ( ) นำเข้ามาใหม่จาก..... เมื่อ.....
ประวัติวัคซีน (ระบุชนิด / วัน / เดือน / ปี).....
ประวัติถ่ายพยาธิ (ระบุชนิด / วัน / เดือน / ปี).....
สภาพแวดล้อมของฟาร์ม.....
โรคที่เคยระบาดในฟาร์ม / ฟาร์มข้างเคียง.....

☐ การจัดการฟาร์ม / โรงเรือน สัตว์เคี้ยวเอื้อง/สัตว์ใหญ่
( ) ปล่อยทุ่งหญ้าเปิด ( ) ปล่อยสาธารณะ
( ) ยืนโรงพื้นปูน ( ) ปล่อยคอกพื้นดิน
( ) ใต้ถุนบ้าน ( ) อื่น ๆ.....
( ) ปล่อยคอกพื้นปูน ( ) ไม่มีข้อมูล

อาหาร สัตว์เคี้ยวเอื้อง/สัตว์ใหญ่
( ) เลี้ยงปล่อยใช้หญ้าธรรมชาติ ( ) หญ้าอย่างเดียว
( ) หญ้าและอาหารข้น ( ) หญ้าและฟาง
( ) หญ้าและพืชตระกูลถั่ว ( ) อื่น ๆ.....
( ) หญ้าและอาหารเสริม ( ) ไม่มีข้อมูล

☐ ไม่มีข้อมูล
จำนวนสัตว์ทั้งฟาร์ม / ฝูง.....ตัว

☐ ไม่มีข้อมูล
จำแนกกลุ่ม 1.....รวม.....ตัว
2.....รวม.....ตัว
3.....รวม.....ตัว
4.....รวม.....ตัว
กลุ่มที่ป่วย.....จำนวน.....ตัว
ตาย.....ตัว ป่วย.....ตัว
วันที่เริ่มป่วยของฝูง...../...../.....
ระยะเวลาป่วยถึงตาย.....วัน
สัตว์ชนิดอื่นร่วมฝูง
ชนิดที่ 1.....จำนวน.....ตัว
ชนิดที่ 2.....จำนวน.....ตัว

☐ การจัดการฟาร์ม / โรงเรือน สุกร/สัตว์ปีก/สัตว์อื่น ๆ
( )เลี้ยงในโรงเรือนพื้นปูน ( ) หลังคากระเบื้อง
( ) เลี้ยงบนบ่อปลา ( ) เลี้ยงในโรงเรือนยกพื้นปูน ( ) หลังคาสังกะสี
( ) เลี้ยงปล่อยทั่วไป ( ) เลี้ยงในโรงเรือนมีวัสดุรองพื้น ( ) หลังคามุงจาก
( ) เลี้ยงใต้ถุนบ้าน ( ) เลี้ยงในโรงเรือนพื้นสแลท ( ) มีพัดลม
( ) เลี้ยงในกรงตับ ( ) เลี้ยงในโรงเรือนพื้นปูนกึ่งสแลท ( ) Evaporation
( ) เลี้ยงในโรงเรือนพื้นดิน ( ) อื่น ๆ.....( ) ไม่มีข้อมูล

อาหารสุกร/สัตว์ปีก/สัตว์อื่น ๆ
( ) เศษอาหาร
( ) อาหารสำเร็จรูปจากบริษัท
( ) ใช้หัวอาหารผสมเอง
( ) อื่น ๆ.....
( ) ไม่มีข้อมูล

แหล่งน้ำ : ( ) บ่อน้ำ ( ) น้ำประปา ( ) บ่อบาดาล ( ) คลอง แม่น้ำ ฯลฯ ( ) ผ่านการฆ่าเชื้อ ( ) อื่น ๆ.....( ) ไม่มีข้อมูล

☐ ไม่มีข้อมูล การจัดการของสัตว์อื่น ๆ.....

อาการสัตว์ป่วย ( ) ระบบทางเดินอาหาร ( ) ระบบทางเดินหายใจ ( ) ระบบประสาท ( ) ระบบทางเดินปัสสาวะ ( ) ระบบสืบพันธุ์
วิการ.....
การรักษา.....ผลการรักษา.....

คำแนะนำเบื้องต้น.....
การวินิจฉัยเบื้องต้นหรือต้องการตรวจ.....

หมายเหตุ 1. ตัวอย่างที่ส่งมาชันสูตรไม่ขอรับคืน 2. ผลการตรวจจะรับรองเฉพาะตัวอย่างที่ส่งตรวจเท่านั้น

สอบถามผลเบื้องต้นวันที่..... ตอบผลภายในวันที่.....

สภาพและคุณลักษณะตัวอย่าง ☐ เหมาะสม จำนวน.....ตย. ☐ ไม่เหมาะสม จำนวน.....ตย. เหตุผล.....

ได้รับทราบและตกลงตามข้อสัญญาของศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง ผู้ส่งตัวอย่าง.....

ได้ทบทวนขีดความสามารถของห้องปฏิบัติการแล้ว ☐ พร้อม ☐ ไม่พร้อม ส่งต่อ..... ผู้รับตัวอย่าง.....

ภาคผนวก ข

ขั้นตอนและวิธีการในการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

1. การทำปฏิกิริยา โดยวิธี Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction (RT-PCR)

สกัดสารพันธุกรรมจากตัวอย่างเนื้อเยื่ออวัยวะเป้าหมายได้แก่ ปอด ต่อมน้ำเหลือง และทอนซิล โดยบดรวมกันทำให้มีความเข้มข้น 20% suspension ใน PBS ที่ pH 7.2 - 7.4 สกัดอาร์เอ็นเอด้วยชุดน้ำยา PureLink™ Viral RNA/DNA Kits (invitrogen™) ตามวิธีการของบริษัทผู้ผลิตแนะนำ และทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ด้วยชุดน้ำยา SuperScript™ One-Step RT-PCR with Platinum® *Taq* โดยเตรียมสารในการทำปฏิกิริยาตามบริษัทผู้ผลิตแนะนำ ใช้อาร์เอ็นเอตั้งต้นปริมาตร 5 ul และ Primer (Forward primer (1010PLS: 5'- ATGGCC AGCCAGTCAATC A-3' และ Reverse primer 1011PLR: 5' - TCGCCCTAATTGAATAGGTG- 3') (Damrongwatanapokin, Arsayuth, and Kongkrong, 1996)

ขั้นตอนในการทำปฏิกิริยาประกอบด้วย Reverse transcription 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที จำนวน 1 รอบ Pre-denaturation 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา15 นาที จากนั้นเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยขั้นตอน Denaturation 94 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วินาที Annealing 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที และ Extension 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 นาที จำนวน 35 รอบ Final extension 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

2. การตรวจหาลำดับสารพันธุกรรม (DNA sequencing)

นำ DNA จากปฏิกิริยา RT-PCR มาทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ชุดทดสอบ QIAquick® PCR Purification Kit (QIAgen) เมื่อได้ DNA ที่บริสุทธิ์ นำมาหาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วย DNA sequencing reaction โดยใช้ Bigdye terminator sequencing kit version 3.1 (Applied Biosystems, California, USA)โดยใช้ปริมาณของดีเอนเอประมาณ 10 - 30 ng โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ A260 nm ซึ่งมีส่วนประกอบของปฏิกิริยาดังต่อไปนี้ คือ ตัวอย่างดีเอนเอที่บริสุทธิ์ 2 µl, specific sequencing primer 3.2 µM (Primer1010PLS และ 1011PLR) อย่างละ 1 µl (3.2 pmol), 5X Big-dye buffer 1 µl (0.5X) และ Bigdye terminator v.3.1 2 µl ปรับปริมาตรให้ได้ 10 µlด้วย ddH_2O นำเข้าเครื่อง Thermal cycle สภาวะที่เหมาะสมคือ Initial denaturation 96 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 นาที Denaturation 96 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วินาที Annealing 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วินาที และ Elongation 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที จำนวน 25 cycle จากนั้นทำการกำจัด dye terminator โดยการตกตะกอนดีเอนเอด้วยเอทานอล (ethanol precipitation) แล้วนำเข้าเครื่องวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรม ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) และวิเคราะห์คุณภาพของกรดนิวคลีอิกด้วยโปรแกรม sequencing analysis (ABI) และโปรแกรม BioEdit version 7.2.2 (Hall, 1999)

ภาคผนวก ค

เครื่องมือในการตรวจวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ

เครื่อง Thermal cycle ในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส

เครื่องวิเคราะห์ลำดับสารพันธุกรรม ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems)

ประวัติผู้ศึกษา

ชื่อ	นางสาวธรรมรัฐ หรพร้อม
วัน เดือน ปีเกิด	10 ธันวาคม 2520
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดร้อยเอ็ด
ประวัติการศึกษา	สัตวแพทยศาสตรบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น พ.ศ. 2545
สถานที่ทำงาน	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการสัตวแพทย์ภาคเหนือตอนล่าง ตำบลวังทอง อำเภอวังทอง จังหวัดพิษณุโลก
ตำแหน่ง	นายสัตวแพทย์ชำนาญการ