9

การตรวจทางซีรัมวิทยา (Serological tests)

การตรวจทางซีรัมวิทยา เป็นวิธีที่มีประโยชน์และใช้กันอย่างแพร่หลาย ซึ่งเป็นประโยชน์ในการใช้เป็นข้อมูลสนับสนุนในการชันสูตรโรคสุกร การตรวจสถานะภาพภูมิคุ้มกันของสุกรในฝูงต่อโรคที่อยู่ในความสนใจ และนำไปใช้เป็นข้อมูลในการจัดการฟาร์ม การป้องกัน การรักษา รวมทั้งวางแผนในการควบคุมหรือกำจัดโรคนั้นๆ ออกจากฟาร์ม ในทางกลับกันผลทางซีรัมวิทยา อาจนำไปสู่การสรุปผลที่ผิดพลาด สับสน และบางครั้งผู้ส่งตรวจต้องเสียค่าใช้จ่ายเป็นเงินจำนวนมาก โดยไม่ได้ประโยชน์จากผลจากห้องปฏิบัติการตามที่ต้องการ หรืออีกนัยหนึ่ง คือ ไม่สามารถใช้ประโยชน์จากผลที่ได้รับ เนื่องจากความไม่เข้าใจเรื่องการเลือกชนิดของการทดสอบ การเก็บตัวอย่าง และจำนวนตัวอย่างที่เหมาะสมมาใช้ในการแปลผลการทดสอบจากห้องปฏิบัติการอย่างถูกต้อง

การตรวจทางซีรัมวิทยาสามารถขจัดข้อสงสัยหรือช่วยตอบคำถามที่ค้างคาใจสัตวแพทย์ในการหาสาเหตุของโรคเมื่อมีปัญหาเกิดขึ้นภายในฟาร์ม โดยไม่ต้องมีการทำลายชีวิตสัตว์ แต่อย่างไรก็ตาม การแปลผลการทดสอบว่า มีผลเป็นบวกหรือลบนั้น สัตวแพทย์ต้องคำนึงถึงข้อจำกัดของการตรวจทางซีรัมวิทยา ซึ่งจะได้อธิบายต่อไป ดังนั้นสิ่งที่ควรคำนึงถึงอยู่เสมอ คือ การตรวจทางซีรัมวิทยาไม่สามารถทดแทนการตรวจชันสูตรได้ทั้งหมด ประวัติของสัตว์ป่วย ผลการชันสูตรซาก ผลทางพยาธิคลินิก ผลทางแบคทีเรีย ผลทางไวรัสวิทยา และผลทางพิษวิทยาต่างก็มีประโยชน์ในการแปลผลทั้งสิ้น ในปัจจุบันได้มีการใช้ผลทางซีรัมวิทยามาช่วยงานด้านระบาดวิทยา (Elbers et al., 1992) ในการหาความชุกของโรคที่สนใจ การตรวจการลดลงของภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากแม่สุกร เพื่อช่วยในการวางโปรแกรมการให้วัคซีนในลูกสุกร ตรวจสถานะภาพทางภูมิคุ้มกันของฝูงสุกร เพื่อช่วยในการคาดคะเนช่วงเวลาของการติดเชื้อจุลชีพ หรือตรวจสถานะภาพของภูมิคุ้มกันต่อโรคต่างๆ ของสุกรในฝูง หลังจากการทำวัคซีน ซึ่งผลทางซีรัมวิทยาเหล่านี้ จะช่วยให้สัตวแพทย์ตัดสินใจในการวางแผนการรักษา การป้องกัน การควบคุม และการกำจัดโรคได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยช่วยในการกำหนดช่วงเวลาที่เหมาะสมในการทำวัคซีน เมื่อภูมิคุ้มกันที่ลูกสุกรได้รับจากแม่ลดลงจนถึงระดับที่ไม่รบกวนการทำวัคซีนชนิดเชื้อเป็น หรือการทำวัคซีนโรคมัยโคพลาสมา และยังสามารถใช้เป็นตัววัดการตอบสนองของภูมิคุ้มกันหลังจากการทำวัคซีน หรือการติดเชื้อในธรรมชาติได้ด้วย

ในประเทศสหรัฐอเมริกาได้มีการใช้การตรวจทางซีรัมวิทยามาช่วยในการวางแผนการกำจัดโรคพิษสุนัขบ้าเทียมในสุกร โดยการใช้วัคซีนที่ผลิตขึ้นจากเทคโนโลยีการตัดยีนที่ควบคุมความรุนแรงออก ร่วมกับการตรวจทางซีรัมวิทยาด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูปที่จำเพาะต่อยีนบางตำแหน่ง (gE) เช่นเดียวกันมีการพัฒนาวัคซีนป้องโรคอหิวาต์สุกรชนิดเชื้อเป็น ด้วยวิธีการตัดยีนบางส่วนของไวรัสออก ซึ่งทำให้สามารถแยกสุกรที่ทำวัคซีนออกจากสุกรที่ติดเชื้อโดยธรรมชาติ (Differentiate infected from vaccinated animals, DIVA) ร่วมกับการตรวจซีรัมสุกรด้วยชุดตรวจสอบอีไลซ่าจำเพาะ (Pasick, 2004) ซึ่งเป็นอีกก้าวหนึ่งของการนำเทคโนโลยีการชันสูตรมาใช้ร่วมกับเทคโนโลยีชีวภาพอื่นๆ เพื่อเป็นเครื่องมือในการควบคุมและกำจัดโรคที่ก่อให้เกิดความสูญเสียต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรให้หมดไปจากประเทศทางยุโรป ส่วนในประเทศไทยยังอยู่ระหว่างการศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้วัคซีนป้องโรคอหิวาต์สุกรชนิดตัดยีน ร่วมกับชุดตรวจสอบสำเร็จรูปชนิดอีไลซ่าจำเพาะในการเฝ้าระวังและควบคุมโรคอหิวาต์สุกรในอนาคต

ชนิดของชุดตรวจสอบทางซีรัมวิทยา (Types of serological tests)

ชุดตรวจสอบทางซีรัมวิทยามีหลายชนิด (ตารางที่ 9.1 และ 9.2) ซึ่งแตกต่างกันไปตามการเลือกใช้ แต่พื้นฐานของชุดตรวจสอบทุกชนิดก็คือ การเกิดปฏิกิริยาเชิงซ้อนระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี (Antigen-Antibody complex) ส่วนความแตกต่างของชุดทดสอบแต่ละชนิดอยู่ที่สภาพของการเกิดปฏิกิริยาเชิงซ้อน วิธีการตรวจ และการวัดปริมาณของสารเชิงซ้อน ชุดตรวจสอบบางชนิด ผู้ทดสอบสามารถมองเห็นปฏิกิริยาของสารเชิงซ้อนที่เกิดขึ้นได้ เช่น การรวมกลุ่มของเชื้อเลปโตสไปรา *(Leptospira* spp.) กับแอนติบอดีจำเพาะโดยวิธี Microscopic agglutination test (MAT) และการเกิดการตกตะกอนเป็นเส้นสีขาวของปฏิกิริยาเชิงซ้อนโดยวิธี Agar gel immuno-diffusion (AGID) การตรวจการติดเชื้อ *Eperythrozoon suis* ด้วยวิธี Indirect Hemagglutination test (IHT) โดยใช้เม็ดเลือดแดงแกะเคลือบด้วยแอนติเจนของ *E. suis* ในทำนองเดียวกัน Latex bead ก็สามารถนำมาใช้เคลือบกับแอนติเจนบางชนิดและนำมาตรวจหาแอนติบอดีจำเพาะได้ โดยสังเกตการรวมกลุ่มเช่นเดียวกัน ซึ่ง Latex agglutination นี้ พบได้ในชุดตรวจสอบแบบสำเร็จรูปของโรคพิษสุนัขบ้าเทียมและโรค Toxoplasmosis ส่วนวิธีการทดสอบโรคพาร์โวไวรัส (Parvovirus) และโรคไข้หวัดใหญ่สุกรนั้น จะใช้คุณสมบัติเฉพาะในการเกาะกลุ่ม (Agglutination) เม็ดเลือดแดงของหนูตะเภา และไก่ตามลำดับ เป็นหลักการในการใช้สารภูมิต้านทานจำเพาะต่อเชื้อนั้นๆ โดยดูการยับยั้งการเกาะกลุ่มของเม็ดเลือดแดง (Hemagglutination Inhibition) ปัจจุบันสามารถตรวจหาการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันโรคไข้หวัดใหญ่สุกรได้ โดยวิธีอีไลซ่า (Enzyme-linked immunosorbent assays or ELISA) ที่จำเพาะต่อโรคไข้หวัดใหญ่สุกร ชนิด H1N1 และ H3N2 เท่านั้น ซึ่งมีข้อจำกัดที่ไม่สามารถทดสอบได้ทุกชนิดของสายพันธุ์ของไข้หวัดใหญ่สุกร จึงจำเป็นต้องใช้วิธีชันสูตรอื่นๆ มาประกอบการวินิจฉัยในหลักการที่คล้ายๆ กันพบว่า แอนติบอดีต่อเชื้อไวรัสบางชนิด เช่น โรคพิษสุนัขบ้าเทียม โรคพีอาร์อาร์เอส และโรคทีจีอี (Transmissable gastroenteritis) สามารถทำลายฤทธิ์ของไวรัสที่ใช้ตรวจสอบชนิดนั้นๆ โดยทดสอบในระบบเซลล์เพาะเลี้ยงที่เรียกว่า การตรวจแอนติบอดีชนิดซีรัมนิวทรัลไลเซชั่น (Serum neutralization) หรือการทดสอบชนิดเอสเอ็น ส่วนการตรวจด้วยวิธี

ตารางที่ 9.1 การตรวจทางซีรัมวิทยาของโรคของสุกรเพื่อการค้าระหว่างประเทศตามคำแนะนำของ Office International des Epizooties (OIE) 2005

ชื่อโรค	การตรวจที่แนะนำ	การตรวจวิธีอื่น ๆ
โรคปากและเท้าเปื่อย (Foot and Mouth Disease)	ELISA, VN	CF
โรคอหิวาต์สุกร (Classical Swine Fever)	NPLA, FAVN, ELISA	-
โรคพิษสุนัขบ้าเทียม (Aujeszky's Disease)	ELISA, VN	-
โรคเลปโตสไปโรซิส (Leptospirosis)	-	MAT
โรคบรูเซลโลซิส (Brucellosis)	ELISA	BBAT, FPA
โรคทริคิเนลโลซิส (Trichinellosis)	-	ELISA
โรคทีจีอี (Transmissible Gastroenteritis)	-	VN, ELISA
โรคพีอาร์อาร์เอส (Porcine reproductive and respiratory syndrome)	-	ELISA, IPMA, IFA
โรคซัลโมเนลโลซีส (Salmonellosis)	-	การเพาะแยกเชื้อ

ตารางที่ 9.2 การตรวจทางซีรัมวิทยาของโรคสุกรที่นอกเหนือคำแนะนำของ OIE (2005)

ชื่อโรค	วิธีการตรวจ
โรคพาร์โวไวรัส (Porcine Parvovirus)	HI
โรคพีพีอี (Porcine Proliferative Enteropathy)	IFA, ELISA
โรคเอ็นซูติกนิวโมเนีย (Enzootic Pneumonia)	ELISA, IHA, CF
โรคไข้หวัดใหญ่สุกร (Swine Influenza)	HI, ELISA

หมายเหตุ :

BBAT : Buffered *Brucella antigen test*
ELISA : Enzyme-linked Immunosorbent assay
FPA : Fluorescence polarization assay
IHA : Indirect hemagglutination
IPMA : Immunoperoxidase monolayer assay
NPLA : Neutralization peroxidase- linked assay
CF : Complement fixation
FAVN : Fluorescent antibody virus neutralization
HI : Hemagglutination inhibition
IFA : Indirect fluorescent assay
MAT : Microscopic agglutination test
VN : Virus neutralization

Complement fixation จะใช้ระบบของคอมพลีเมนต์ ซึ่งมี 2 ขั้นตอนกล่าวคือ ขั้นแรกเป็นการเกิดปฏิกริยาเชิงซ้อนระหว่างแอนติเจนและแอนติบอดี ซึ่งจะจับกับคอมพลีเมนต์ก่อน ดังนั้นจะไม่มีคอมพลีเมนต์เหลืออยู่พอ ที่จะทำให้เม็ดเลือดแดงของแกะที่ถูกกระตุ้นก่อนหน้านั้นด้วย Haemolysin แตกสลายได้ การตรวจด้วยวิธีนี้พบได้ในการตรวจสอบโรคเอพีพี *(Actinobacillus pleuropneumoniae)* โรคมัยโคพลาสมา *(Mycolplasma hyopneumoniae)* และโรค Chlamydiosis (Ornithosis : *Chlamydia psittaci*) ในอดีต แต่ในปัจจุบันมีการพัฒนาวิธีการตรวจโรคดังกล่าวด้วยวิธีอีไลซา ซึ่งได้รับความนิยมมากกว่า เนื่องจากสะดวกรวดเร็ว และสามารถตรวจตัวอย่างได้ครั้งละจำนวนมากๆ

การตรวจด้วยวิธีอีไลซ่า เป็นวิธีตรวจปฏิกิริยาทางอ้อมของแอนติบอดีที่จำเพาะต่อแอนติเจน ซึ่งจับกับพื้นของถาด 96 หลุม (96 - well plates) ในขั้นแรก โดยจะมีเอนไซม์เกาะอยู่กับแอนติบอดีที่จำเพาะต่ออิมมูโนกลอบูลินชนิด จี (Immunoglobulin G, IgG) ของสุกรที่จำเพาะต่อโรคที่ต้องการตรวจ (Indirect ELISA) หรืออาจพัฒนาให้มีความจำเพาะมากขึ้น โดยใช้เอนไซม์เกาะกับแอนติบอดีหรืออิมมูโนกลอบูลินที่แย่งกันจับกับแอนติเจนบนพื้นผิวที่พื้นหลุม (Blocking or competitive ELISA) เช่น ชุดตรวจสอบอีไลซ่าของโรคพิษสุนัขบ้าเทียม (Wongwatcharadumrong and Platt, 1995; Kinker et al., 1997) และโรคมัยโคพลาสมา (Ameri-Mahabadi et al., 2005) โดยในปัจจุบันมีการพัฒนามาเป็นการค้า และใช้ทั่วไปในห้องปฏิบัติการชันสูตรทั่วโลก

การแปลผลการตรวจทางซีรัมวิทยา (Serological interpretation)

คำนิยามของ "ซีรัมวิทยา" คือ วิทยาศาสตร์ของการตรวจภูมิคุ้มกันจำเพาะในของเหลวของร่างกาย หรืออาจกล่าวว่า เป็นการตรวจความเข้มข้นของสารเชิงซ้อนของแอนติบอดีและแอนติเจน (Tyler and Cullor, 1989) ณ ที่นี้ให้คำจำกัดความของ "ซีรัมวิทยา" ว่า เป็นการศึกษาเกี่ยวกับแอนติบอดีและปฏิกิริยาของแอนติบอดีกับแอนติเจนในของเหลวภายในร่างกาย ข้อดีของซีรัมวิทยามีหลายกรณี เช่น ไม่จำเป็นต้องฆ่าสุกร สามารถทราบผลได้ โดยไม่ต้องส่งสุกรชันสูตรซาก วิธีการไม่ยุ่งยาก ราคาไม่แพง และตรวจตัวอย่างได้ในจำนวนมากๆ อย่างไรก็ตาม การสรุปผลการตรวจทางซีรัมวิทยานั้น ต้องคำนึงถึงความถูกต้อง และข้อจำกัดของวิธีการตรวจแต่ละวิธี รวมทั้งต้องเข้าใจถึงค่าทางสถิติ และระบาดวิทยาด้วย ซึ่งผลการตรวจทางซีรัมวิทยาสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ให้ผลบวกของแอนติบอดีต่อเชื้อที่ต้องการตรวจ และกลุ่มที่ไม่พบแอนติบอดี ในสถานการณ์ปัจจุบัน ยังไม่มีชุดทดสอบชนิดใดที่สามารถแยกกลุ่มประชากรทั้ง 2 กลุ่ม ได้อย่างเด็ดขาด จึงมักพบสุกรที่ให้ผลการตรวจเป็นบวก แต่ไม่เป็นโรคที่ต้องการตรวจ หรือเรียกว่าผลบวกลวง (False positive) หรือสุกรที่ให้ผลการตรวจเป็นลบ แต่เป็นสุกรที่ติดโรคนั้นๆ เรียกว่า ผลลบลวง (False negative) (ตารางที่ 9.3) ความเกี่ยวเนื่องกันของค่าทางซีรัมวิทยา จะมีผลต่อความไว (Sensitivity) ความจำเพาะ (Specificity) และค่าทำนายของชุดทดสอบ (Predictive value) (ตารางที่ 9.4)

ความไวของชุดตรวจสอบ หมายถึง ความน่าจะเป็นที่จะได้ผลจากห้องปฏิบัติการเป็นบวกในตัวอย่างที่มีการติดเชื้อทั้งหมด ค่าความไวของชุดตรวจสอบที่สูงขึ้นแสดงว่า ชุดตรวจสอบ

สามารถตรวจตัวอย่างที่ติดเชื้อได้มากขึ้นตามลำดับ ซึ่งเป็นการลดโอกาสของผลลบลวง (Smith, 1995) โดยเฉพาะอย่างยิ่งการตรวจหาสุกรติดเชื้อในกลุ่มประชากรที่มีความชุกของโรคต่ำ เนื่องจากความไวของชุดตรวจสอบจะลดลงขณะที่สุกรเพิ่งติดเชื้อ และจะสูงขึ้นเรื่อยๆ ก่อนที่จะลดลงอีกครั้ง เมื่อแอนติบอดีลดลงตามระยะเวลาหลังจากติดเชื้อ ดังนั้นการวัดความสามารถของชุดตรวจสอบในแง่ของความไวคือ ความสามารถในการตรวจหาสุกรติดเชื้อที่มีระดับแอนติบอดีในเลือดต่ำได้

ความจำเพาะของชุดตรวจสอบ หมายถึง ความน่าจะเป็นที่จะได้ผลจากห้องปฏิบัติการเป็นลบในตัวอย่างที่ปลอดโรคทั้งหมด ค่าความจำเพาะของชุดตรวจสอบจะสูงขึ้น เมื่อชุดตรวจสอบสามารถตรวจตัวอย่างที่ปลอดโรคได้มากขึ้นตามลำดับ ซึ่งเป็นการลดโอกาสของผลบวกลวงในกลุ่มประชากรที่มีความชุกของโรคต่ำ (Smith, 1995) ในกรณีต้องการที่จะคัดสุกรที่ติดเชื้อออกจากฝูง โดยไม่เกิดความสูญเสียจากการคัดทิ้งสุกรที่มีผลบวกลวง

ค่าทำนายของชุดตรวจสอบ หมายถึง ความน่าจะเป็นของความถูกต้องของผลทางห้องปฏิบัติการที่ได้รับ ค่าทำนายบวกคือ ความน่าจะเป็นของผลบวกจากห้องปฏิบัติการที่ได้จากกลุ่มประชากรที่ติดเชื้อ ส่วนค่าทำนายลบ คือ ความน่าจะเป็นของผลลบจากห้องปฏิบัติการที่ได้จากกลุ่มประชากรที่ปลอดโรคจริงๆ

การตัดสินใจที่จะเลือกชนิดของการทดสอบที่มีความไว และความจำเพาะเหมาะสม ขึ้นอยู่กับความต้องการลดโอกาสการได้ผลบวกลวง ผลลบลวง และค่าใช้จ่ายที่เกิดขึ้นจากการทดสอบ ซึ่งรวมถึงค่าใช้จ่ายที่อาจเกิดขึ้นจากผลลบลวงในฝูงที่มีความชุกของโรคต่ำ หรือในฝูงที่ปลอดโรค

ตารางที่ 9.3 ผลที่คาดว่าจะได้จากชุดตรวจสอบ

ผลทางห้องปฏิบัติการ	สุกรติดเชื้อ	สุกรปลอดโรค
ผลทางห้องปฏิบัติการเป็นบวก	A: ผลบวกจริง	B: ผลบวกลวง
ผลทางห้องปฏิบัติการเป็นลบ	C: ผลลบลวง	D: ผลลบจริง

ตารางที่ 9.4 การคำนวณค่าความไว ความจำเพาะ และค่าทำนายของชุดตรวจสอบ

ค่าตัวแปรเสริมของชุดตรวจสอบ (Diagnostic parameters)	สูตร
ความไวของชุดตรวจสอบ	A ÷ (A + C)
ความจำเพาะของชุดตรวจสอบ	D ÷ (B + D)
ค่าทำนายบวก	A ÷ (A + B)
ค่าทำนายลบ	D ÷ (C + D)

หมายเหตุ: A = ผลบวกจริง B = ผลบวกลวง C = ผลลบลวง D = ผลลบจริง

ซึ่งทำให้มีการเก็บสุกรที่ติดเชื้อไว้ในฝูง และก่อให้เกิดความเสียหายในอนาคตจากโรคที่อาจเกิดขึ้นทั้งแบบเฉียบพลัน และแบบเรื้อรัง รวมถึงความสูญเสียทางเศรษฐกิจในการกำจัดโรคนั้นๆ ดังนั้น การเพิ่มความไวของการทดสอบจึงประกอบด้วย การเลือกใช้ชุดตรวจสอบที่มีความไวสูงที่สามารถตรวจพบโรคได้เร็วหลังจากติดเชื้อ การลดค่าที่แบ่งระหว่างผลบวกและผลลบ (Cut-off value) ซึ่งมีผลในการช่วยลดจำนวนตัวอย่างที่ได้ผลลบลวง ส่วนการเพิ่มจำนวนตัวอย่างของการทดสอบแต่ละครั้ง และการเพิ่มความถี่ของการตรวจให้บ่อยขึ้น เป็นการเพิ่มโอกาสของการตรวจหาตัวอย่างที่ติดเชื้อ ซึ่งทั้งนี้ต้องเข้าใจถึงปัจจัยต่างๆ ที่อาจมีผลต่อการทดสอบด้วย เช่น ช่วงอายุของสัตว์ที่เก็บตัวอย่าง และกลุ่มประชากรที่ควรเลือกเก็บ เช่น สุกรทดแทน สุกรหลังหย่านม หรือในแต่ละระยะของสุกรที่มีการรวมฝูง และมีโอกาสสัมผัสโรค ซึ่งเป็นการเพิ่มโอกาสของการตรวจพบตัวอย่างที่ติดเชื้อ อย่างไรก็ตามในทางตรงกันข้าม หากค่าความไวของการทดสอบสูงขึ้น โอกาสที่จะตรวจได้ผลบวกลวงก็มากขึ้น และมีผลทำให้ค่าความจำเพาะของการทดสอบจะลดลง

การเลือกใช้วิธีการตรวจหลายวิธี ในการวินิจฉัยโรคหนึ่งๆ เป็นการเพิ่มโอกาสของทั้งความไวและความจำเพาะในการวินิจฉัยโรคนั้น การทดสอบควบคู่กันไป (Parallel testing) คือ การตรวจตัวอย่างด้วยวิธีการทดสอบมากกว่า 1 การทดสอบพร้อมกัน โดยหากการทดสอบเพิ่มเติมเพียง 1 การทดสอบให้ผลการทดสอบเป็นบวกเช่นกัน ถือเป็นการยืนยันว่าตัวอย่างนั้นให้ผลเป็นบวก ซึ่งเป็นการเพิ่มความไวของการทดสอบ ในขณะที่การทดสอบเชิงอนุกรม (Serial testing) คือ การตรวจตัวอย่างหลายๆ ตัวอย่างด้วยการทดสอบแบบคัดกรองก่อน จากนั้นจะเลือกตัวอย่างที่ให้ผลบวกมาตรวจซ้ำ ซึ่งมีหลักในการอ่านผลบวกของตัวอย่าง คือ ตัวอย่างทั้งคู่ ต้องให้ผลบวกในการทดสอบ โดยการทดสอบเชิงอนุกรมจะเพิ่มความจำเพาะของการทดสอบได้ ส่วนการทดสอบซ้ำ (Repeat testing) หมายถึง การเก็บตัวอย่างจากกลุ่มประชากรเดิม และตรวจซ้ำด้วยการทดสอบชนิดเดิม การทดสอบซ้ำไม่ได้เพิ่มความไวต่อการตรวจในสัตว์แต่ละตัว แต่เป็นการเพิ่มความไวและความจำเพาะในการตรวจต่อฝูงสุกร โดยเฉพาะฝูงสุกรที่มีความชุกของโรคต่ำ หรือฝูงที่ปลอดโรค

ดังนั้นสัตวแพทย์ควรศึกษาถึงความไวและความจำเพาะของชุดตรวจสอบที่จะใช้ก่อน เพื่อความเข้าใจอย่างถ่องแท้ เพราะโดยทั่วๆ ไปแล้วสัตวแพทย์มักไม่ทราบข้อมูลเหล่านี้เท่ากับผู้ตรวจในห้องปฏิบัติการชันสูตร ซึ่งในทางระบาดวิทยาแล้ว ความไวและความจำเพาะของชุดตรวจสอบสามารถนำมาประมวลหาค่าทำนายของผลทางซีรัมวิทยา และความสัมพันธ์ของค่าทำนาย กับความชุกของการติดเชื้อในฟาร์ม (Prevalence) ได้ รวมทั้งใช้หาค่าความสัมพันธ์ของผลทางซีรัมวิทยากับการเกิดโรคทางคลินิกที่เรียกว่า สัดส่วนการเกิดโรค (Odd ratio) (Tyler and Cullor, 1989) การทำความเข้าใจหลักการที่อ้างถึงนี้ จำเป็นต่อการแปลผลของชุดตรวจสอบ และการเลือกใช้ชุดตรวจสอบชนิดที่เหมาะสมกับเชื้อแต่ละชนิด ความไวของชุดตรวจสอบหมายถึง ความถูกต้องของผลการทดสอบตัวอย่างที่มีแอนติบอดีจำเพาะต่อจุลชีพที่ตรวจ ในขณะที่ความจำเพาะของชุดตรวจสอบหมายถึง การวัดความถูกต้องของชุดตรวจสอบในการตรวจตัวอย่างที่ไม่มีแอนติบอดีจำเพาะได้ถูกต้อง ส่วนค่าทำนายของผลการตรวจว่าบวกหรือลบ คือ ความเป็นไปได้ของผลการตรวจที่ถูกต้องตามสถานะภาพของตัวอย่าง ซึ่งมักจะขึ้นอยู่กับความชุกของโรค กล่าวคือ ถ้าความชุกของโรคที่ต้องการตรวจลดลง ค่าคาดคะเนของการตรวจว่าเป็นบวกจะลดลงด้วย ดังนั้นในการ

วางแผนการกำจัดโรคระบาดนั้น จึงจำเป็นต้องใช้ชุดตรวจสอบที่มีความจำเพาะมากขึ้น เพื่อหลีกเลี่ยงปัญหาของผลบวกลวง ซึ่งมีการเปลี่ยนมาใช้ชุดตรวจสอบที่มีความจำเพาะมากขึ้นในฝูงสุกรที่มีความชุกของโรคต่ำ เพื่อลดปัญหาของผลบวกลวงจากชุดตรวจสอบที่มีความไวสูง อาจมีปัญหาตามมา คือ ความไวของชุดทดสอบที่ลดลง ทำให้ยากต่อการตรวจหาสุกรที่ติดเชื้อในฝูง ในที่นี้ขอยกตัวอย่างการตรวจชนิดเอสเอ็น (Serum neutralization test) ของโรคพิษสุนัขบ้าเทียมในฝูงสุกรที่มีความชุกของโรคต่ำ ซึ่งสัตวแพทย์มักพบปัญหาของผลลบลวง เนื่องจากการตรวจเอสเอ็นมีความไวต่อการตรวจต่ำ แต่มีความจำเพาะสูง ดังนั้นเพื่อให้ผลที่ได้มีความถูกต้องและแม่นยำมากขึ้น สัตวแพทย์ควรเลือกใช้ชุดทดสอบที่มีความไวและความจำเพาะสูง เช่น การตรวจแยก gE ในสุกรที่ติดเชื้อจากสุกรที่ได้รับวัคซีนโรคพิษสุนัขบ้าเทียมโดยวิธีอีไลซ่า ส่วนการตรวจ PCFIA (Particle concentration fluorescence assay) และการตรวจ Autolex (Automated latex agglutination) ซึ่งยังไม่ได้รับความนิยมมากนักในประเทศไทย

ในกรณีที่ต้องการข้อมูลที่เป็นประโยชน์จากการตรวจซีรัมวิทยาในฝูงสุกรนั้น สัตวแพทย์ต้องเข้าใจถึงรูปแบบการเก็บตัวอย่างแบบต่างๆ และจำนวนตัวอย่างตามหลักทางสถิติ เพื่อให้เป็นตัวแทนที่ดีของประชากรสุกรในฝูง รูปแบบการเก็บตัวอย่างนั้นมีหลายแบบ ได้แก่ 1) การเก็บตัวอย่างครั้งเดียว 2) การเก็บตัวอย่าง 2 ครั้ง (Paired sera) เพื่อเปรียบเทียบผลการตอบสนองต่อการเกิดโรคแบบเฉียบพลันและหลังจากที่สุกรหายป่วย 3) การเก็บตัวอย่างจากสุกรอายุต่างๆ กันหรือจากต่างโรงเรือนในวันเดียวกัน (Cross-sectional sampling) เพื่อตรวจสถานะภาพภูมิคุ้มกันของฝูง และใช้ประโยชน์ในการวางแผนการจัดการในอนาคต และ 4) การเก็บตัวอย่างทดสอบเป็นระยะๆ ในสุกรชุดเดิม (Longitudinal sampling) เพื่อใช้ในการศึกษาหรืองานวิจัย ส่วนการเลือกวิธีการเก็บตัวอย่างที่เหมาะสม ขึ้นอยู่กับความต้องการของผู้ตรวจว่า ต้องการทราบอะไรจากการทดสอบที่เลือกตรวจนั้น

การเก็บตัวอย่างเพื่อตรวจครั้งเดียว มีจุดประสงค์ในการพิสูจน์การเกิดโรคที่สงสัยขึ้นในฝูงสุกรที่ไม่เคยมีประวัติการเกิดโรค หรือทำวัคซีนต่อโรคนั้นๆ มาก่อน ซึ่งผลจากการทำวัคซีนอาจทำให้การแปลผลซับซ้อนและยุ่งยากขึ้น แต่ระดับการตอบสนองของแอนติบอดีอาจบอกได้ว่า เป็นการตอบสนองต่อการทำวัคซีน หรือการติดเชื้อตามธรรมชาติ เพราะการตอบสนองต่อการติดเชื้อจะให้ระดับแอนติบอดีที่สูงกว่าการทำวัคซีน สัตวแพทย์จึงควรพิจารณาให้รอบคอบในการแปลผล เพราะทุกอย่างมีข้อจำกัดและข้อยกเว้น ดังเช่นกรณีของโรคพิษสุนัขบ้าเทียมที่สัตวแพทย์เคยเชื่อว่า หากมีระดับแอนติบอดีชนิดเอสเอ็น (SN titer) มากกว่า 1:32 ในฝูงที่มีการทำวัคซีนต่อโรคพิษสุนัขบ้าเทียมแสดงสุกรฝูงนั้นมีการติดเชื้อโดยธรรมชาติ ผลจากการใช้ชุดทดสอบหลายชนิดพบว่า สุกรที่มีการติดเชื้อพิษสุนัขบ้าเทียมบางตัวมีค่าเอสเอ็นไตเตอร์ต่ำกว่า 1:32 และสุกรบางตัวที่ได้รับการทำวัคซีนป้องกันโรคพิษสุนัขบ้าเทียมหลายครั้ง อาจมีค่าแอนติบอดีชนิดเอสเอ็นมากกว่า 1:32 ได้ ดังนั้นการพิจารณาว่าค่าไตเตอร์ที่สูงขึ้นของสุกรในฝูงนั้นเกิดจากการทำวัคซีนหรือเกิดจากการติดเชื้อ ขึ้นอยู่กับระดับของไตเตอร์ที่ตรวจได้ ประวัติการเกิดโรคในอดีต ประวัติการทำวัคซีน ร่วมกับผลจากการชันสูตรด้วยวิธีการต่างๆ มาประมวลเข้าด้วยกัน แต่อย่างไรก็ตาม การตรวจทางซีรัมวิทยาชนิดอีไลซ่าของโรคบางชนิด เช่น โรคพีอาร์อาร์เอส นั้นไม่สามารถแยกได้ระหว่างการทำวัคซีนกับการติดเชื้อโดยธรรรมชาติ ดังนั้นการตัดสินใจของ

สัตวแพทย์จึงต้องอาศัยข้อมูลที่กล่าวมาแล้วข้างต้น.

การเก็บตัวอย่างคู่ห่างกัน 2 ช่วงเวลา และการเก็บตัวอย่างเป็นระยะๆ เพื่อตรวจดูการเปลี่ยนแปลง สถานะภาพทางภูมิคุ้มกันของสุกรนั้น โดยทั่วๆไปแล้ว ระดับของแอนติบอดีที่ต่างกันประมาณ 4 เท่า (Four-fold) นั้น หมายถึงการเปลี่ยนแปลงที่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ไม่ว่าจะเป็นการตรวจพบของแอนติบอดีในซีรัม (Seroconversion) หรือการลดลงของแอนติบอดีในระยะหายป่วย เนื่องมาจากพื้นฐานของหลักการที่เรียกว่า Two-fold serial dilution ที่ใช้กันทั่วไปทางซีรัมวิทยา ดังนั้นระดับปริมาณแอนติบอดีที่แท้จริงอาจสูงกว่าหรือต่ำกว่าระดับที่ตรวจสอบได้โดยชุดตรวจสอบหนึ่งๆ ในกรณีของระดับแอนติบอดีชนิดเอสเอ็นของโรคพิษสุนัขบ้าเทียมนั้น ระดับของแอนติบอดีมักจะสูงอยู่นาน อย่างไรก็ตาม ระดับของแอนติบอดีที่ได้ขึ้นอยู่กับชนิดชุดทดสอบที่ใช้ ดังนั้นควรเปรียบเทียบระดับของแอนติบอดีที่ได้ในแต่ละช่วงเวลาเมื่อใช้กับชุดทดสอบชนิดเดียวกันเท่านั้น และถ้าเป็นไปได้ควรทดสอบตัวอย่างทั้งหมดในวันเดียวกัน

ตารางแสดงจำนวนตัวอย่างที่เหมาะสมในการส่งตรวจหาแอนติบอดีจำเพาะ สามารถค้นหาได้ในหนังสือของ Thrusfield (1995) แต่โดยทั่วไปแล้ว สัตวแพทย์สามารถใช้การคาดคะเนจำนวนตัวอย่างได้ เช่น ในฟาร์มที่พบความชุกของโรคชนิดหนึ่งในสุกรดูดนมร้อยละ 30 แต่ในแม่สุกรพบความชุกของโรคเพียงร้อยละ 10 สัตวแพทย์ควรส่งตัวอย่างซีรัมของสุกรดูดนมประมาณ 10 ตัวอย่าง และตัวอย่างจากแม่สุกรประมาณ 30 ตัวอย่าง เพื่อให้ได้ระดับความเชื่อมั่น (Confidence level) ที่ร้อยละ 95 โดยไม่ต้องคำนึงถึงขนาดของฟาร์มสุกร โดยจากโปรแกรมการกำจัดโรคพิษสุนัขบ้าเทียมของประเทศสหรัฐอเมริกากำหนดให้ฟาร์มทุกฟาร์มส่งตัวอย่างซีรัมสุกร 28 ตัวอย่าง โดยประมาณว่า มีความชุกของโรคอยู่ที่ร้อยละ 10 และระดับความเชื่อมั่นอยู่ที่ร้อยละ 95 (Miller et al., 1996) อย่างไรก็ตามการเก็บตัวอย่างที่นิยมโดยทั่วไปในประเทศไทย นิยมใช้การเก็บตัวอย่างจากสุกรอายุต่างๆ กันหรือจากต่างโรงเรือนในวันเดียวกันประมาณ 30 ตัวอย่าง มากกว่าการเก็บตัวอย่างทดสอบเป็นระยะๆ และคำนึงถึงวัตถุประสงค์ที่ต้องการในการตรวจ เช่น การเก็บตัวอย่างซีรัมเพื่อสำรวจความชุกของโรค และการเก็บตัวอย่างเพื่อการวางแผนการป้องกันโรค

การเก็บตัวอย่างซีรัมเพื่อสำรวจความชุกของโรค มีข้อควรคำนึงที่สัตวแพทย์ต้องตระหนักคือกลุ่มประชากรที่เลือกเก็บและจำนวนของตัวอย่างที่เก็บ กลุ่มประชากรที่อยู่ในเป้าหมายควรเป็นกลุ่มประชากรสุกรที่มีโอกาสสัมผัสโรคมาก่อน ดังนั้นกลุ่มประชากรที่ดีที่สุดสำหรับการเก็บตัวอย่างเพื่อหาความชุกของโรคหนึ่งๆ คือ สุกรพันธุ์ และสุกรขุนที่ใกล้ส่งขาย จำนวนตัวอย่างที่ควรเก็บเพื่อส่งตรวจดังที่ได้กล่าวในหนังสือของ Thrusfield (1995) แต่โดยทั่วไปจะเก็บประมาณ 30 ตัวอย่าง ตามการกระจายของลำดับท้อง เพื่อให้มองเห็นภาพของการอมโรคที่จุดใดจุดหนึ่งของฝูงสุกรพันธุ์ กล่าวคือ ควรเก็บตัวอย่างประมาณ 4-5 ตัวอย่างในแม่สุกรแต่ละลำดับท้อง ขึ้นอยู่กับปัญหาที่เกิดขึ้นว่าอยู่ที่จุดไหน เช่น ต้องการสำรวจความชุกของโรคพิษสุนัขบ้าเทียม โดยวิธีอีไลซ่าชนิด gE จะพบว่าความชุกของโรคมักอยู่ที่แม่สุกรลำดับท้องท้ายๆ แต่จำเป็นต้องตรวจภาวะพาหะอย่างละเอียดในแม่สุกรสาวทดแทน และควรนำเข้าแต่สุกรทดแทนที่มีผลการทดสอบเป็นลบเท่านั้น มิฉะนั้นจะไม่สามารถลดปริมาณความชุกของโรคพิษสุนัขบ้าเทียมในฝูงสุกรได้ การเก็บตัวอย่างควรให้ความสำคัญทั้งแม่สุกร

สาวและแม่สุกรนาง ในทางตรงกันข้ามความชุกของโรคอื่นๆ เช่น โรคพีอาร์อาร์เอส และโรคมัยโคพลาสมาจะพบมากในแม่สุกรสาว เนื่องจากสุกรสาวทดแทนเพิ่งผ่านการสัมผัสเชื้อมาจากการปรับสภาพ (Acclimation) ในคอกกักโรค หากพบความไม่สม่ำเสมอของระดับภูมิคุ้มกัน ในแม่สุกรแต่ละลำดับท้อง อาจแสดงว่ามีการติดเชื้อซ้ำ (Reinfection) ในฝูงแม่สุกรนาง หรือมีการติดเชื้อไวรัสสายพันธุ์อื่น ในกรณีของโรคพีอาร์อาร์เอสมักมาจากปัญหาการจัดการที่ไม่เหมาะสม สำหรับสุกรขุนนั้นการสำรวจความชุกของโรคที่นิยม คือ โรคพิษสุนัขบ้าเทียม และโรคติดเชื้อที่ก่อปัญหาในสุกรขุน เช่น โรคเอพีพี และโรคพีไอเอ เป็นต้น ซึ่งมีวัตถุประสงค์ในการเฝ้าระวังโรค และช่วยในการวางแผนควบคุม และกำจัดโรคต่อไป

การเก็บตัวอย่างเพื่อการวางแผนป้องกันโรค มีจุดประสงค์เพื่อใช้ในการวางแผนการทำโปรแกรมวัคซีนที่ต้องคำนึงถึงระดับของแอนติบอดีจากแม่ที่ยังคงอยู่ในลูกสุกร การประเมินช่วงระยะเวลาการติดโรคในลูกสุกรเพื่อวางโปรแกรมวัคซีน หรือโปรแกรมการให้ยาปฏิชีวนะเพื่อป้องกันและควบคุมโรคก่อนการติดเชื้อแบคทีเรีย รวมถึงในช่วงที่มีการแพร่ระบาดของโรคไวรัสปฐมภูมิที่อาจทำให้มีการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนได้ง่าย การเก็บตัวอย่างจากสุกรอายุต่างๆ กันหรือจากต่างโรงเรือนในวันเดียวกันในระบบการเลี้ยงสุกรแบบระบบต่อเนื่อง (Continuous flow) เป็นวิธีที่นิยมใช้ โดยจะเก็บซีรัม 4-5 ตัวอย่างที่อายุเดียวกัน และกระจายแต่ละสัปดาห์เพื่อความเหมาะสมจนครบ 30-40 ตัวอย่าง ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพยาธิกำเนิดของแต่ละโรค เช่น เก็บ 5 ตัวอย่างที่อายุต่างๆ กัน ทุก 4 สัปดาห์ จนถึงอายุ 28 สัปดาห์ เพื่อให้มองเห็นภาพของระดับของแอนติบอดีจากแม่ที่ค่อยๆ ลดลง และช่วงระยะเวลาที่ระดับของแอนติบอดีจากการติดเชื้อโดยธรรมชาติในฟาร์มค่อยๆ เพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้ความถี่ของแต่ละช่วงอายุที่เก็บตัวอย่าง ขึ้นอยู่กับลักษณะการเกิดโรคนั้นๆ หรือปัญหาที่เกิดขึ้นในช่วงอายุนั้นๆ เป็นต้น การให้วัคซีนชนิดเชื้อเป็นหรือแม้แต่วัคซีนชนิดเชื้อตายบางชนิด เช่น วัคซีนโรคพาร์โวไวรัส (Paul and Mengeling, 1986) และวัคซีนโรคมัยโคพลาสมา มีข้อควรคำนึง คือ ถ้ามีระดับภูมิคุ้มกันที่ได้รับจากแม่ในระดับที่สูงขณะทำวัคซีนในลูก จะไปมีผลรบกวนระบบการสร้างแอนติบอดีในลูก หรือก่อให้เกิดความล้มเหลวจากการทำวัคซีน นอกจากนี้การตรวจพบระดับของภูมิคุ้มกันที่สูงขึ้นหลังจากการติดเชื้อโดยธรรมชาติ จะช่วยในการวางโปรแกรมวัคซีน และโปรแกรมการให้ยาปฏิชีวนะที่เหมาะสมต่อสุกรฝูงนั้นๆ ต่อไป

การประเมินความสำเร็จของโปรแกรมการทำวัคซีนในลูกสุกร สามารถประเมินได้โดยวิธีการทดสอบทางซีรัมวิทยาที่เหมาะสม เช่น การประเมินค่าพื้นฐาน (Baseline) ของผลการทดสอบทางซีรัมวิทยาของโรคอหิวาต์สุกรโดยวิธีเอ็นพีแอลเอ (Neutralizing peroxidase-linked assay, NPLA) ก่อนการทำวัคซีน และหลังการทำวัคซีนโรคอหิวาต์สุกรอย่างน้อย 6 สัปดาห์ โดยการทำวัคซีนครั้งแรกในลูกสุกร ควรทำในลูกสุกรที่มีระดับแอนติบอดีชนิดเอ็นพีแอลเอเฉลี่ยน้อยกว่า 1:32 และหากพบว่า สุกรมากกว่า 80 เปอร์เซ็นของฝูงหลังจากทำวัคซีนแล้วไม่น้อยกว่า 6 สัปดาห์ ยังมีระดับแอนติบอดี ชนิดเอ็นพีแอลเอ เฉลี่ยมากกว่า 1:32 สามารถให้ความเชื่อมั่นถึงประสิทธิภาพของวัคซีนที่ใช้ได้ว่ามีความสามารถในการกระตุ้นแอนติบอดีที่ป้องกันโรคอหิวาต์สุกรในระดับที่ยอมรับได้ (Terpstra and Wensvoort, 1988)

ข้อควรคำนึงในการแปลผลทางซีรัมวิทยา (Awareness in serological interpretation)

การตรวจทางซีรัมวิทยาเป็นการวัดระดับแอนติบอดีในกระแสเลือด ซึ่งโดยทั่วไปจะพบอิมมูโนกลอบูลินชนิด เอ็ม (IgM) และอิมมูโนกลอบูลินชนิด จี (IgG) เป็นหลัก โดยอิมมูโนกลอบูลินชนิด เอ็ม จะพบปริมาณสูงสุดในเลือดช่วงระยะแรกของการติดเชื้อ และลดปริมาณลงเร็วกว่าอิมมูโนกลอบูลินชนิด จี ซึ่งจะค่อยเพิ่มปริมาณในเลือดอย่างช้าๆ แต่จะรักษาระดับ และคงอยู่นานในกระแสเลือด การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันแบบปฐมภูมิจากการติดเชื้อหรือจากการทำวัคซีนจะให้ระดับแอนติบอดี ไตเตอร์ (Antibody titer) ที่ต่ำกว่าการตอบสนองแบบทุติยภูมิ ซึ่งสามารถเพิ่มระดับปริมาณแอนติบอดีได้เร็วและคงระดับอยู่ได้นานกว่า โดยการตรวจทางซีรัมวิทยาแต่ละวิธีจะมีจำเพาะต่อชนิดของอิมมูโนกลอบูลินต่างกัน ตารางที่ 9.5

ดังนั้นการเลือกวิธีการตรวจทางซีรัมวิทยาจึงควรเลือกให้เหมาะกับชนิดของอิมมูโนกลอบูลินที่เกิดขึ้นในกระแสเลือดของเวลาที่เหมาะสมในการติดเชื้อแต่ละชนิด เช่น การตรวจเอสเอ็นในโรคพีอาร์อาร์เอส จะมีระดับแอนติบอดีปริมาณที่พอจะวัดได้ในกระแสเลือด ต้องใช้เวลาไม่ต่ำกว่า 7 สัปดาห์หลังจากติดเชื้อ (Nilubol et al., 2004) แต่ในโรคพิษสุนัขบ้าเทียม จะใช้เวลาน้อยกว่า 2 สัปดาห์หลังการติดเชื้อ (Rothschild et al., 1984) การให้ผลบวกของการตรวจสามารถเกิดขึ้นได้ทั้งจากการติดเชื้อในอดีต กำลังติดเชื้ออยู่ จากการทำวัคซีน จากการได้รับภูมิคุ้มกันจากแม่ การเกิดภูมิคุ้มกันต่อเชื้อชนิดอื่นที่มีแอนติเจนใกล้เคียงกัน (Cross reaction) หรืออาจเป็นผลบวกลวงก็ได้

ความเข้าใจในรายละเอียดของการทดสอบแต่ละชนิด มีความจำเป็นที่จะต้องมีความเข้าใจก่อนส่งตรวจ สำหรับการทดสอบวินิจฉัยโรคพีอาร์อาร์เอส ด้วยชุดตรวจสอบอีไลซ่า (HerdChek® PRRS ELISA, IDEXX Laboratories Inc., Westbrook, Maine, USA) พบว่า ได้รับความนิยมมากในการตรวจคัดกรองกลุ่มประชากรสุกรที่มีความชุกของโรคต่ำ เนื่องจากมีความไวและความจำเพาะสูง สามารถตรวจตัวอย่างได้ครั้งละมากๆ และให้ผลทดสอบเร็ว สุกรที่ติดเชื้อจะให้ผลการทดสอบเป็นบวกภายใน 2 สัปดาห์หลังได้รับเชื้อ และค่าความไวของการทดสอบจะขึ้นเป็นร้อยละ 100 เมื่อตรวจที่ 3 สัปดาห์หลังได้รับเชื้อ

การให้ผลลบของการตรวจ เกิดจากในซีรัมที่ส่งตรวจมีระดับปริมาณแอนติบอดีต่ำกว่าที่ความไวของชุดตรวจสอบจะสามารถวัดได้ ซึ่ง

ตารางที่ 9.5 ชนิดของอิมมูโนกลอบูลินที่จำเพาะต่อการตรวจโดยวิธีต่างๆ (Kinker et al., 1997)

การตรวจ	IgM	IgG
Agglutination	+++	+
Complement fixation	+++	+
Serum neutralization	++	+
Precipitation	+	+++
Hemagglutination inhibition	+	+
Enzyme-linked immunosorbent assay	+	+
Indirect fluorescent antibody	+	+

ผลลบที่ได้ไม่ได้หมายความว่า สุกรตัวนั้นไม่มีการติดเชื้อ หรือมีการติดเชื้อในระยะฟักตัว หรืออยู่ในระยะที่สารภูมิต้านทานลดต่ำลงหลังจากหายป่วย ตัวอย่างเช่น ค่าอัตราส่วน S/P ของผลการตรวจทางซีรัมวิทยาโรคพีอาร์อาร์เอส ด้วยชุดตรวจสอบของ IDEXX มีค่า 0.380 และ 0.410 ในสุกรพ่อพันธุ์ตัวที่ 1 และ 2 ซึ่งทางห้องปฏิบัติการจะรายงานผลว่าสุกรพ่อพันธุ์ตัวที่ 1 มีผลเป็นลบและสุกรพ่อพันธุ์ตัวที่ 2 มีผลเป็นบวก เนื่องจากค่าที่เป็นตัวแบ่งระหว่างค่าบวกและลบ (Cut-off value) อยู่ที่ 0.4 แต่ในความเป็นจริงแล้วสุกรทั้งสองตัวติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสมาก่อน ดังนั้นค่าอัตราส่วน S/P ของโรคพีอาร์อาร์เอสที่ต่ำกว่า 0.4 อาจหมายถึงสุกรที่เพิ่งได้รับเชื้อและอยู่ในระยะที่กำลังสร้างภูมิต้านทาน หรืออาจเป็นสุกรที่หายป่วยและอยู่ในช่วงที่ระดับแอนติบอดีกำลังลดลง เช่นเดียวกับชุดตรวจสอบอีไลซ่าทั่วๆ ไปที่ไม่สามารถแยกแยะแอนติบอดีที่ได้รับจากแม่ (Maternal antibody) ออกจากแอนติบอดีที่เกิดจากการติดเชื้อในธรรมชาติได้

ในกรณีที่ต้องการตรวจแยกสุกรที่เพิ่งได้รับเชื้อภายใน 14 วัน หรือตรวจคัดกรองสุกรอายุต่ำกว่า 7 สัปดาห์ ควรใช้วิธีพีซีอาร์ โดยอาจใช้วิธีรวมตัวอย่าง 3-5 ตัวอย่างเป็น 1 ตัวอย่าง (Pooled samples) เพื่อเพิ่มความไวในการตรวจ และลดค่าใช้จ่ายในการตรวจ ทั้งนี้ผู้ส่งตรวจควรตระหนักถึงความไวของวิธีพีซีอาร์ ในแต่ละห้องปฏิบัติการที่มีความไวของการทดสอบต่างกัน ถ้ามีความไวต่ำและกลุ่มประชากรมีสุกรปลอดโรคมาก ภาวะที่ถูกเจือจาง ซีรัมหลายตัวอย่าง อาจทำให้ได้ผลลบลวง

การใช้วิธีทดสอบไอเอฟเอ (Indirect immunofluorescent assay, IFA) หรือวิธีไอพีเอ็มเอ (Immunoperoxidase monolayer assay, IPMA) เป็นวิธีทดสอบเพื่อการคัดกรองโรคพีอาร์อาร์เอส ในปัจจุบันไม่เป็นที่นิยมเนื่องจากค่อนข้างยุ่งยากและใช้เวลานาน แต่มักใช้วิธีดังกล่าวในการตรวจเพื่อยืนยันผลการทดสอบที่เป็นบวกจากการทดสอบอื่นมาก่อนเช่นเดียวกับวิธีพีซีอาร์ ส่วนการใช้วิธีการเพาะแยกเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและการทดสอบเอสเอ็นนั้น ไม่เป็นที่นิยมในการทดสอบหาการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส แบบเฉียบพลัน เนื่องจากมีความไวของการทดสอบต่ำและใช้เวลานานในการทดสอบ จากข้อมูลข้างต้นจะพบว่า การตรวจทางซีรัมวิทยานั้น มีทั้งข้อดีและข้อเสีย ดังนั้นการจะเลือกใช้วิธีในการทดสอบ จึงควรทำด้วยความระมัดระวัง เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อเกษตรกรอย่างเต็มที่ และควรใช้ร่วมกับข้อมูลจากการซักประวัติสัตว์ป่วย ผลการผ่าชันสูตรซาก ผลทางไวรัสวิทยา ผลทางแบคทีเรียวิทยา ผลทางพยาธิคลินิก และผลทางพิษวิทยา เพื่อให้การชันสูตรโรคสุกรนั้นได้ผลที่ถูกต้องและแม่นยำยิ่งขึ้น

ตัวอย่างการแปลผลทางซีรัมวิทยา

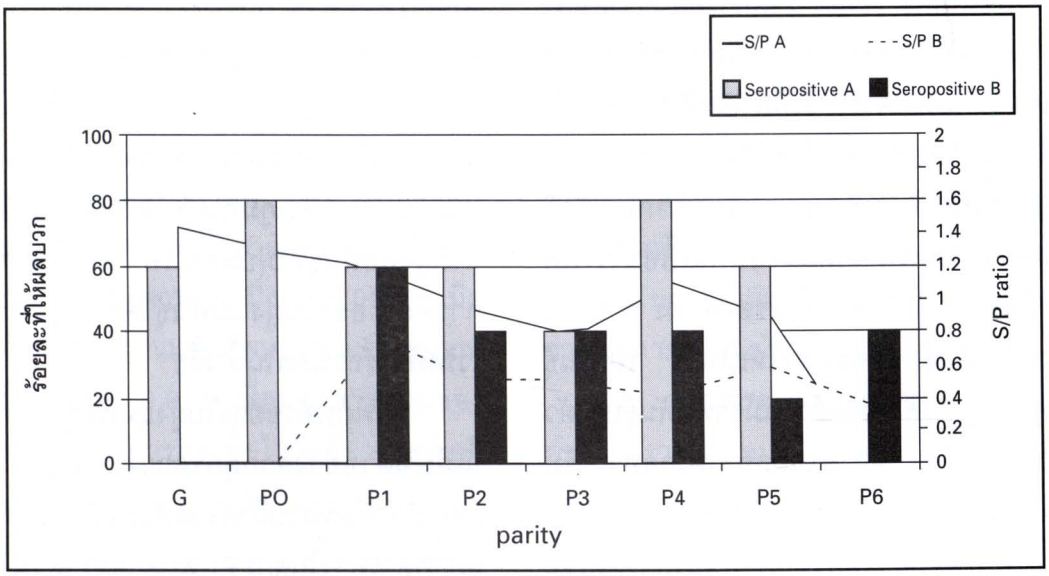
1. ผลการเก็บตัวอย่างซีรัมจากฟาร์มสุกรใน จ.ชลบุรี จำนวน 2 ฟาร์ม เพื่อตรวจระดับภูมิคุ้มกันของโรคพีอาร์อาร์เอส โดยใช้ชุดตรวจสอบอีไลซ่า IDEXX เมื่อวันที่ 17 พ.ย. 2548 ดังตารางที่ 9.6 และรูปที่ 9.1 และ 9.2

ตารางที่ 9.6 ผลการตรวจระดับภูมิคุ้มกันของโรคพีอาร์อาร์เอส โดยใช้ชุดตรวจสอบอีไลซ่า IDEXX ในฟาร์มสุกร A และ ฟาร์มสุกร B (P = ผลบวก N = ผลลบ)

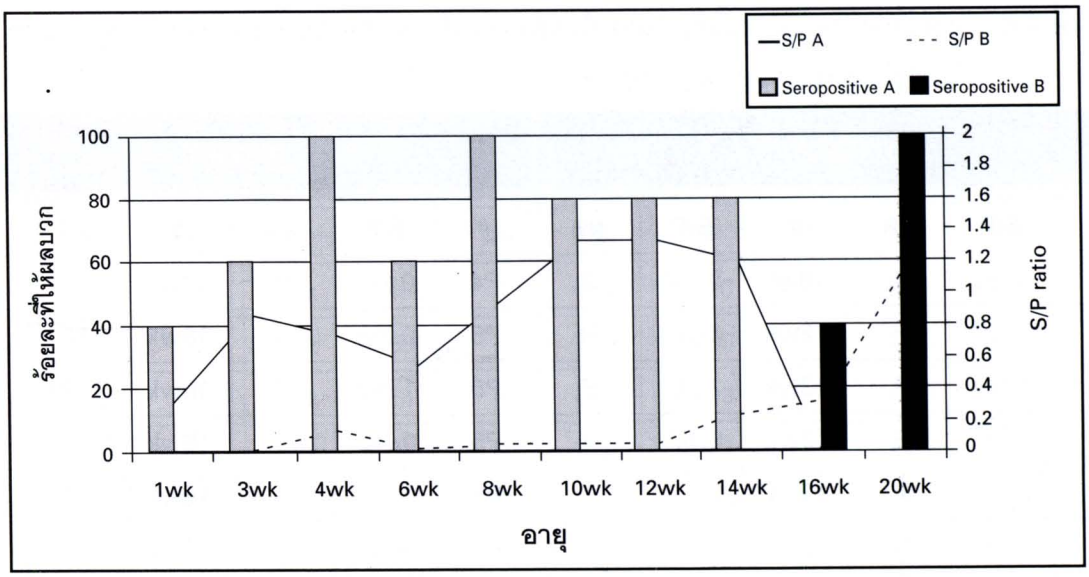
ฟาร์ม A						ฟาร์ม B					
#	S/P	ผล	#	S/P	ผล	#	S/P	ผล	#	S/P	ผล
Boar	2.203	P	1wk	0.480	P	Boar	0.920	P	4wk	0.477	P
Boar	2.710	P	1wk	0.651	P	Boar	0.430	P	4wk	0.008	N
Boar	2.468	P	1wk	0.143	N	Boar	1.039	P	4wk	0.028	N
Boar	0.809	P	1wk	0.329	N	Boar	0.767	P	4wk	0.005	N
Boar	2.537	P	1wk	0.063	N	Boar	0.834	P	4wk	0.070	N
G	3.037	P	3wk	0.289	N	Boar	0.228	N	6wk	0.018	N
G	2.571	P	3wk	0.843	P	Boar	0.078	N	6wk	0.003	N
G	1.022	P	3wk	2.311	P	Boar	0.759	P	6wk	0.031	N
G	0.369	N	3wk	0.834	P	Boar	0.676	P	6wk	0.008	N
G	0.186	N	3wk	0.109	N	Boar	0.047	N	6wk	0.009	N
P0	1.303	P	4wk	0.849	P	P1	1.940	P	8wk	0.005	N
P0	1.117	P	4wk	0.914	P	P1	1.210	P	8wk	0.003	N
P0	1.385	P	4wk	0.760	P	P1	0.093	N	8wk	0.021	N
P0	2.521	P	4wk	0.691	P	P1	0.539	P	8wk	0.005	N
P0	0.151	N	4wk	0.529	P	P1	0.017	N	8wk	0.114	N
P1	0.012	N	6wk	0.854	P	P2	0.021	N	10wk	0.163	N
P1	0.883	P	6wk	0.617	P	P2	0.010	N	10wk	0.008	N
P1	1.772	P	6wk	0.300	N	P2	0.073	N	10wk	0.003	N
P1	2.821	P	6wk	0.740	P	P2	1.966	P	10wk	0.007	N
P1	0.320	N	6wk	0.246	N	P2	0.538	P	10wk	0.021	N
P2	0.129	N	8wk	1.346	P	P3	0.021	N	12wk	0.057	N
P2	0.846	P	8wk	0.934	P	P3	0.368	N	12wk	0.003	N
P2	1.955	P	8wk	1.129	P	P3	0.220	N	12wk	0.013	N
P2	0.251	N	8wk	0.437	P	P3	1.251	P	12wk	0.005	N
P2	1.414	P	8wk	0.777	P	P3	0.528	P	12wk	0.070	N
P3	2.427	P	10wk	0.549	P	P4	1.207	P	14wk	0.124	N
P3	0.243	N	10wk	1.337	P	P4	0.117	N	14wk	0.328	N
P3	0.189	N	10wk	2.323	P	P4	0.329	N	14wk	0.008	N
P3	0.228	N	10wk	1.566	P	P4	0.031	N	14wk	0.374	N

ตารางที่ 9.6 ผลการตรวจระดับภูมิคุ้มกันของโรคพีอาร์อาร์เอส โดยใช้ชุดตรวจสอบอีไลซ่า IDEXX ในฟาร์มสุกร A และ ฟาร์มสุกร B (ต่อ)

ฟาร์ม A						ฟาร์ม B					
#	S/P	ผล	#	S/P	ผล	#	S/P	ผล	#	S/P	ผล
P3	0.762	P	10wk	0.774	P	P4	0.412	P	14wk	0.211	N
P4	1.037	P	12wk	0.014	N	P5	0.288	N	16wk	0.529	P
P4	1.404	P	12wk	2.274	P	P5	1.943	P	16wk	0.149	N
P4	2.151	P	12wk	0.989	P	P5	0.293	N	16wk	0.326	N
P4	0.571	P	12wk	0.997	P	P5	0.015	N	16wk	0.466	P
P4	0.280	N	12wk	337	P	P5	0.345	N	16wk	0.018	N
P5	0.309	N	14wk	2.557	P	P6	0.474	P	20wk	0.844	P
P5	1.586	P	14wk	1.351	P	P6	0.197	N	20wk	1.119	P
P5	1.677	P	14wk	0.689	P	P6	0.977	P	20wk	0.435	P
P5	0.777	P	14wk	0.323	N	P6	0.024	N	20wk	1.402	P
P5	0.012	N	14wk	0.951	P	P6	0.060	N	20wk	1.634	P



รูปที่ 9.1 กราฟแสดงผลทางซีรัมวิทยาโรคพีอาร์อาร์เอส ในฝูงแม่พันธุ์ ของฟาร์ม A และ B ตรวจโดยวิธีอีไลซ่า



รูปที่ 9.2 กราฟแสดงผลทางซีรัมวิทยาโรคพีอาร์อาร์เอส ในลูกสุกร ของฟาร์ม A และ B ตรวจโดยวิธีอีไลซ่า

จากผลที่ได้ถ้ามองในภาพรวมจะพบว่าฟาร์มสุกรทั้งสองฟาร์มมีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสอยู่แล้ว แต่ฟาร์ม B จะมีความนิ่งของฝูงแม่สุกรพันธุ์มากกว่า (รูปที่ 9.1) กล่าวคือ ไม่ค่อยมีการขับไวรัสจากแม่ไปสู่ลูก เนื่องจากการติดเชื้อในลูกสุกรค่อนข้างช้า (รูปที่ 9.2) ฝูงแม่พันธุ์ของฟาร์ม B ค่อนข้างนิ่ง เนื่องมาจากการจัดการค่อนข้างดีหลังจากผ่านภาวะการระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอสมาได้หนึ่งปี แต่ข้อควรระวังที่สำคัญคือการนำเข้าไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ใหม่สู่ฟาร์ม (ส่วนใหญ่มาจากการนำเข้าพ่อ-แม่สุกรพันธุ์จากแหล่งที่ไม่ทราบประวัติหรือจากน้ำเชื้อที่ปนเปื้อนไวรัสพีอาร์อาร์เอส) การเก็บตัวอย่างของฟาร์ม B มีการเก็บจากพ่อพันธุ์ทุกตัวแสดงให้เห็นว่า พ่อพันธุ์เกือบทุกตัวมีการติดเชื้อแล้ว แม้ว่าพ่อพันธุ์บางตัวจะมีค่าอัตราส่วน S/P ของผลการตรวจทางซีรัมวิทยาโรคพีอาร์อาร์เอส ต่ำกว่า 0.4 เช่น มีค่าเท่ากับ 0.228 พ่อพันธุ์นี้อาจอยู่ในสภาพของการติดเชื้อระยะแรกที่ภูมิคุ้มกันกำลังไต่ระดับขึ้น หรืออาจเป็นพ่อพันธุ์ที่ผ่านการติดเชื้อมาระยะหนึ่งแล้วระดับภูมิคุ้มกันกำลังตกลง ทั้งนี้สัตวแพทย์ควรเปรียบเทียบกับประวัติของสุกรว่า เป็นพ่อสุกรหนุ่มหรือพ่อสุกรแก่ ถ้าเป็นพ่อสุกรหนุ่มอาจงดใช้น้ำเชื้อชั่วคราว เนื่องจากอยู่ในการติดเชื้อระยะแรกที่สามารถขับไวรัสมากับน้ำเชื้อได้ (อาจส่งตรวจน้ำเชื้อด้วยวิธีพีซีอาร์) ส่วนพ่อสุกรที่มีค่าอัตราส่วน S/P ที่ 0.047 และ 0.078 ถ้าเป็นพ่อสุกรหนุ่มอาจกล่าวได้ว่า ยังไม่เคยสัมผัสไวรัสพีอาร์อาร์เอสมาก่อน แต่ถ้าเป็นพ่อที่มีอายุผ่านการใช้งานมาแล้ว และอยู่ในฝูงที่ให้ผลเป็นบวกจากไวรัสพีอาร์อาร์เอส อาจกล่าวได้ว่าเคยติดเชื้อมาแล้วและระดับภูมิคุ้มกันได้ลดลงจนเป็นค่าลบ ทั้งนี้ฝูงพ่อพันธุ์ที่ไม่ปลอดโรค สามารถทำให้เกิดการติดเชื้อซ้ำในฝูงแม่พันธุ์ได้จากการปนเปื้อนไวรัสพีอาร์อาร์เอสในน้ำเชื้อ

การเก็บตัวอย่างในฝูงแม่พันธุ์ของฟาร์ม B นั้นไม่มีตัวอย่างจากสุกรสาวทดแทนและสุกรรอผสม ทำให้ไม่ทราบถึงความสัมฤทธิ์ผลของการปรับสภาพสุกรสาวในสุกร P1 พบค่าอัตราส่วน S/P มีค่าเท่ากับ 0.093 และ 0.017 แสดงให้เห็นว่าสุกรสาวกลุ่มนี้ยังไม่เคยสัมผัสเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสมาก่อน ซึ่งจัดเป็นกลุ่มประชากรย่อย (Subpopulation) เสี่ยง

ที่จะเป็นตัวเพิ่มปริมาณไวรัสในฝูง เช่นเดียวกับแม่สุกรท้องอื่นๆ ที่ค่าอัตราส่วน S/P ต่ำกว่า 0.0XX ร่วมกับจะเห็นได้ว่า ลูกสุกรจากฟาร์ม B ที่ 4 สัปดาห์ มีค่าอัตราส่วน S/P ต่ำกว่า 0.0XX บ่งบอกถึงการได้รับภูมิคุ้มกันจากแม่ที่ไม่มีแอนติบอดีต่อโรคพีอาร์อาร์เอส หรืออาจเป็นไปได้ว่า ระดับแอนติบอดีที่ได้รับจากแม่ลดลงเร็ว การยืนยันอาจต้องเก็บซีรัมเพิ่มในลูกสุกรอายุต่ำกว่า 4 สัปดาห์ ในฟาร์ม B นี้ การติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เริ่มในสุกรอายุ 14 สัปดาห์ เป็นข้อดีที่การติดเชื้อเกิดขึ้นค่อนข้างช้า ทำให้ปัญหาโรคระบบทางเดินหายใจซับซ้อนในสุกรขุนไม่ค่อยมีบทบาทมาก เนื่องจากสุกรมีอายุมากขึ้น และมีความต้านทานโรคมากกว่าสุกรอายุน้อย (Thanawongnuwech et al., 1997) ไวรัสพีอาร์อาร์เอส อาจติดมาจากลูกสุกรที่ได้รับไวรัสจากแม่ (พบน้อยมากในฟาร์มนี้) หรืออาจติดมาจากระบบการเลี้ยงที่ระบบชีวนิรภัยบกพร่อง (จากสุกรอายุมากสู่สุกรอายุน้อย หรือจากภายนอก) ทั้งนี้ในฟาร์มที่สถานะภาพทางภูมิคุ้มกันของฝูงแม่พันธุ์ค่อนข้างนิ่ง ควรเพิ่มมาตรการระบบชีวนิรภัย เพื่อลดโอกาสของการนำเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส สายพันธุ์อื่น หรือโรคติดเชื้อต่างๆ เข้าสู่ฟาร์ม

ฟาร์ม A มีการสุ่มเก็บตัวอย่าง 5 ตัวอย่างในแต่ละกลุ่มอายุ และมีการเก็บตัวอย่างในลูกสุกรอายุ 1 และ 3 สัปดาห์ด้วย ค่าอัตราส่วน S/P ของลูกสุกรอายุ 1 สัปดาห์ตัวหนึ่งมีค่า 0.063 เมื่อเปรียบเทียบผลกับฝูงแม่พันธุ์พบว่า แม่ P1 จำนวนหนึ่งตัวมีผลเลือด 0.012 เมื่อมองภาพรวมของฟาร์มนี้พบว่า มีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสค่อนข้างเร็ว โดยเฉพาะในเล้าคลอด การติดเชื้ออาจมาจากความล้มเหลวจากการปรับสภาพสุกรสาวทดแทนที่มีผลเลือดเป็นบวกมาก่อน โดยสุกรสาวกลุ่มนี้อาจเป็นตัวนำไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ใหม่เข้าสู่ฟาร์ม เนื่องจากระยะพัก (Cool down) ในคอกกักกันโรคค่อนข้างสั้น ทำให้สุกรสาวยังสามารถขับไวรัสพีอาร์อาร์เอส ให้กับฝูงแม่พันธุ์ได้ นอกจากนี้ค่าอัตราส่วน S/P ในกลุ่มพ่อสุกรมีค่าค่อนข้างสูง อาจเป็นจุดที่แสดงให้เห็นว่า มีการระบาดของไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ใหม่ในฟาร์ม ร่วมกับค่าอัตราส่วน S/P ในแม่สุกรนางบางตัวที่สูงขึ้น โดยภาวะการติดเชื้อซ้ำจากไวรัสสายพันธุ์เดิมจะไม่กระตุ้นให้ระดับภูมิคุ้มกันสูงขึ้นแบบ Anamnestic response ซึ่งในกรณีของการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสนี้จะต่างจากการติดเชื้อจุลชีพชนิดอื่นๆ โดยถ้ามีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ที่ต่างจากเดิม จะมีระดับภูมิคุ้มกันที่สูงขึ้นกว่าเดิมแบบ Anamnestic response ได้พอสมควร แต่ไม่เท่ากับไวรัสชนิดอื่น

ภาวะการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในเล้าคลอดของฟาร์ม A ส่งผลให้ไม่พบการลดลงของระดับภูมิคุ้มกันจากแม่ในลูกสุกรที่อายุ 4 สัปดาห์ ค่าอัตราส่วน S/P ในลูกสุกรจะเป็นบวกเกือบทั้งหมดและไต่ระดับสูงขึ้น ร่วมกับการพบปัญหาของการติดเชื้อแบคทีเรียแทรกซ้อนมากขึ้นทั้งในเล้าคลอดและเล้าอนุบาล เมื่อเปรียบเทียบกับฟาร์ม B แล้ว ปัญหาโรคระบบทางเดินหายใจซับซ้อนในฟาร์ม B จะไม่ค่อยมีหรือถ้ามีจะพบที่อายุประมาน 14-16 สัปดาห์ โดยสุกรที่มีอายุมากขึ้น จะมีความทนต่อโรคไวรัสพีอาร์อาร์เอส มากขึ้น โดยสรุปแล้วการแปลผลทางซีรัมวิทยาจำเป็นต้องมีประวัติการเกิดโรค ร่วมกับข้อมูลทางด้านการจัดการมาช่วย ในการแปลผลให้ถูกต้องมากยิ่งขึ้น

2. จากตัวอย่างซีรัมจากฟาร์มเดียวกันทำการตรวจหาแอนติบอดีต่อแอนติเจน gE ของโรคพิษสุนัขบ้าเทียมโดยวิธีอีไลซ่า (IDEXX) ได้ผลดังตารางที่ 9.7 (ผลบวกได้ค่าอัตราส่วน S/N ≤ 0.6 ผลที่ต้องตรวจซ้ำ ค่าอัตราส่วน S/N อยู่ระหว่าง 0.6-0.7 และผลลบได้ค่าอัตราส่วน S/N ≥ 0.7)

ตารางที่ 9.7 ผลการตรวจระดับภูมิคุ้มกันของโรคพิษสุนัขบ้าเทียมโดยใช้ชุดตรวจสอบอีไลซ่าชนิด gE IDEXX . ในฟาร์มสุกร A และ ฟาร์มสุกร B

ฟาร์ม A						ฟาร์ม B					
#	S/P	ผล	#	S/P	ผล	#	S/P	ผล	#	S/P	ผล
Boar	0.137	P	1wk	0.077	P	Boar	0.920	N	4wk	0.977	N
Boar	0.073	P	1wk	0.071	P	Boar	0.830	N	4wk	0.078	P
Boar	0.075	P	1wk	0.075	P	Boar	1.039	N	4wk	0.078	P
Boar	0.809	P	1wk	0.329	P	Boar	0.767	N	4wk	0.075	P
Boar	1.198	N	1wk	0.076	P	Boar	0.834	N	4wk	1.070	N
G	0.178	P	3wk	0.289	P	Boar	1.056	N	6wk	1.018	N
G	0.658	Retest	3wk	0.072	P	Boar	1.184	N	6wk	0.073	P
G	0.071	P	3wk	0.178	P	Boar	1.006	N	6wk	1.031	N
G	1.346	N	3wk	0.301	P	Boar	0.976	N	6wk	0.079	P
G	1.097	N	3wk	0.076	P	Boar	1.047	N	6wk	0.120	P
P0	1.187	N	4wk	0.070	P	P1	1.015	N	8wk	0.075	P
P0	0.075	P	4wk	0.647	Retest	P1	0.957	N	8wk	1.049	N
P0	0.385	P	4wk	0.071	P	P1	1.108	N	8wk	1.359	N
P0	0.607	Retest	4wk	0.301	P	P1	1.096	N	8wk	0.224	P
P0	1.151	N	4wk	0.529	P	P1	1.027	N	8wk	1.114	N
P1	1.012	N	6wk	0.178	P	P2	1.021	N	10wk	0.963	N
P1	0.683	Retest	6wk	0.224	P	P2	1.010	N	10wk	1.008	N
P1	0.428	P	6wk	0.649	Retest	P2	1.073	N	10wk	0.073	P
P1	0.071	P	6wk	0.077	P	P2	0.966	N	10wk	1.007	N
P1	0.920	N	6wk	0.246	P	P2	0.938	N	10wk	0.921	N
P2	0.075	P	8wk	0.177	P	P3	1.021	N	12wk	1.057	N
P2	0.071	P	8wk	0.120	P	P3	0.868	N	12wk	0.943	N
P2	0.074	P	8wk	0.129	P	P3	1.120	N	12wk	1.013	N
P2	0.072	P	8wk	0.437	P	P3	.951	N	12wk	1.005	N
P2	0.074	P	8wk	0.077	P	P3	0.928	N	12wk	1.070	N
P3	0.074	P	10wk	0.079	P	P4	1.107	P	14wk	0.424	P
P3	0.243	P	10wk	0.107	P	P4	1.117	N	14wk	0.928	N
P3	0.189	P	10wk	0.068	P	P4	0.929	N	14wk	1.008	N
P3	0.228	P	10wk	0.566	P	P4	1.031	N	14wk	0.974	N
P3	0.071	P	10wk	0.074	P	P4	0.120	P	14wk	0.811	N
P4	0.076	P	12wk	0.067	P	P5	0.988	N	16wk	0.079	P
P4	0.404	P	12wk	0.274	P	P5	1.943	P	16wk	1.149	N

ตารางที่ 9.7 ผลการตรวจระดับภูมิคุ้มกันของโรคพิษสุนัขบ้าเทียมโดยใช้ชุดตรวจสอบอีไลซ่าชนิด gE IDEXX ในฟาร์มสุกร A และ ฟาร์มสุกร B (ต่อ)

ฟาร์ม A						ฟาร์ม B					
#	S/P	ผล	#	S/P	ผล	#	S/P	ผล	#	S/P	ผล
P4	0.151	P	12wk	0.089	P	P5	0.993	N	16wk	0.926	N
P4	0.571	P	12wk	0.097	P	P5	1.015	N	16wk	0.966	N
P4	0.280	P	12wk	0.337	P	P6	0.145	P	16wk	1.018	N
P5	0.309	P	14wk	0.557	P	P6	0.474	P	20wk	0.244	P
P5	0.586	P	14wk	0.151	P	P6	0.197	P	20wk	0.119	P
P5	0.077	P	14wk	0.089	P	P6	0.077	P	20wk	0.065	P
P5	0.077	P	14wk	0.323	P	P6	0.074	P	20wk	0.402	P
P5	0.072	P	14wk	0.051	P	P6	0.060	P	20wk	0.074	P

ความเข้าใจพื้นฐานในการแปลผลทางซีรัมวิทยาโรคพิษสุนัขบ้าเทียม จากการตรวจแอนติบอดีชนิด gE ด้วยวิธีอีไลซ่า ประกอบด้วย

1. วิธีอีไลซ่าที่ตรวจนี้สามารถแยกการติดเชื้อโรคพิษสุนัขบ้าเทียมโดยธรรมชาติออกจากการได้รับวัคซีนโรคพิษสุนัขบ้าเทียม ทั้งชนิดเชื้อตายและชนิดเชื้อเป็นที่ได้รับตัดยีนส่วน gE ออกจากไวรัสวัคซีน

2. วัคซีนโรคพิษสุนัขบ้าเทียมที่สุกรได้รับไม่มีประสิทธิภาพในการป้องกันการติดโรค แต่จะมีส่วนช่วยในการลดอาการทางคลินิก และลดการขับเชื้อไปยังสิ่งแวดล้อม

3. เมื่อสุกรให้ผลบวกจากการติดเชื้อโดยธรรมชาติ สุกรตัวนั้นจะมีผลการตรวจเป็นบวกด้วยวิธีอีไลซ่าตลอดชีวิต

4. แอนติบอดีที่ได้รับจากแม่ที่ติดเชื้อโดยธรรมชาติ เช่น นมน้ำเหลือง สามารถตรวจพบด้วยวิธีอีไลซ่าได้นานถึง 8-12 สัปดาห์ หลังคลอด

จากผลทางห้องปฏิบัติการพบว่าสุกรในฟาร์ม A มีความชุกของโรคพิษสุนัขบ้าเทียมสูงคือ ร้อยละ 80 ในพ่อสุกร ร้อยละ 90 ในฝูงแม่พันธุ์ และร้อยละ 60 ในสุกรสาว (ในที่นี้สุกรที่ให้ผลการตรวจอีไลซ่า Retest ถือว่ามีผลเป็นบวก) สำหรับปัญหาการพบสุกรสาวทดแทนติดโรคพิษสุนัขบ้าเทียม อาจเกิดจากการปรับสภาพสุกรสาวทดแทนกับแม่สุกรคัดทิ้ง ที่ติดโรคพิษสุนัขบ้าเทียมแบบแฝงเรื้อรัง (Persistent infection) หรืออาจเกิดจากระบบทดแทนเองในฟาร์มที่เลี้ยงสุกรทดแทนรวมกับสุกรขุน จึงทำให้มีโอกาสสัมผัสโรคได้ง่ายในฟาร์มที่มีความชุกของโรคสูง และเมื่อเปรียบเทียบกับฟาร์ม B พบว่า ในฝูงแม่สุกรมีความชุก ร้อยละ 30 โดยพบมากเฉพาะในกลุ่มแม่สุกรนางอายุมาก และไม่พบการติดโรคในฝูงพ่อสุกรพันธุ์ นอกจากนี้ในฟาร์ม B ไม่มีตัวอย่างจากสุกรสาวทดแทน แต่อาจสรุปได้ว่า มีการทดแทนจากแหล่งที่ปลอดโรคพิษสุนัขบ้าเทียม จึงไม่พบการติดเชื้อในแม่สุกรตั้งแต่แม่สุกรท้องแรก ซึ่งเป็นข้อกำหนดของการลดความชุกของโรคพิษสุนัขบ้าเทียมในฟาร์มที่ต้องมีการทดแทนเฉพาะสุกรปลอดโรคเท่านั้น เนื่องจากแม่สุกรมีวงจรชีวิตอยู่ในฟาร์มนาน จึงมีโอกาสสัมผัสโรคได้ในช่วงใดช่วงหนึ่งของชีวิต และเมื่อมีการติดเชื้อแล้วจะให้ผลการตรวจด้วยวิธีอีไลซ่าตลอดไป และสามารถขับเชื้อไวรัสโรคพิษสุนัขบ้าเทียมให้กับสุกรปลอดโรคได้ ทั้งนี้จึงควร

ตรวจเลือดสุกรสาวทดแทนทุกตัว และคัดทิ้งสุกรนางอายุมากที่ให้ผลบวกเมื่อตรวจด้วยวิธีอิไลซ่าต่อโรคพิษสุนัขบ้าเทียม เพื่อลดความชุกของโรคและเพื่อให้ฟาร์มปลอดจากโรคพิษสุนัขบ้าเทียมในอนาคต นอกจากนี้อาจทำการลดโอกาสติดต่อของโรคพิษสุนัขบ้าเทียมจากพ่อสุกรที่ติดเชื้อไปยังแม่สุกรพันธุ์ โดยการใช้การผสมเทียมซึ่งเป็นการลดการสัมผัสโดยตรงจากการผสมจริง และงดใช้พ่อสุกรที่ให้ผลเป็นบวกต่อโรคพิษสุนัขบ้าเทียมในการตรวจการเป็นสัดในฝูงแม่พันธุ์เป็นต้น

ผลตรวจของลูกสุกรในฟาร์ม A พบว่า ให้ผลเป็นบวกเกือบทุกตัวตั้งแต่อายุ 1 สัปดาห์ จนถึง 14 สัปดาห์ แสดงถึงความชุกของโรคพิษสุนัขบ้าเทียมที่สูง โดยลูกสุกรมีการสัมผัสโรคตั้งแต่แอนติบอดีที่ได้รับจากแม่ผ่านนมน้ำเหลืองยังไม่หมด จึงทำให้พบลูกสุกรที่มีผลการตรวจด้วยวิธีอีไลซ่าเป็นบวกในลูกสุกรทุกอายุ ในขณะที่ลูกสุกรในฟาร์ม B พบว่า ร้อยละ 60 ของลูกสุกรอายุ 4 และ 6 สัปดาห์ ร้อยละ 40 ในลูกสุกรอายุ 8 สัปดาห์ และ ร้อยละ 20 ในลูกสุกรอายุ 10 สัปดาห์ ให้ผลการตรวจด้วยวิธีอีไลซ่าเป็นบวกจากโรคพิษสุนัขบ้าเทียม และไม่พบลูกสุกรที่อายุ 12 สัปดาห์มีผลการตรวจด้วยวิธีอีไลซ่าเป็นบวกเลย แต่จะพบสุกรเริ่มให้ผลการตรวจด้วยวิธีอีไลซ่าเป็นบวกร้อยละ 20 ที่อายุ 14 และ 16 สัปดาห์ และสุกรให้ผลการตรวจอีไลซ่าเป็นบวกทั้งหมดที่ 20 สัปดาห์ แสดงว่าแอนติบอดีที่ได้รับจากนมน้ำเหลืองจากแม่หมดลงที่อายุประมาณ 10-12 สัปดาห์ จากนั้นลูกสุกรจะเริ่มสัมผัสโรค และติดเชื้อโรคพิษสุนัขบ้าเทียมที่อายุประมาณ 14 สัปดาห์ขึ้นไป อย่างไรก็ตามผลการตรวจด้วยวิธีอีไลซ่าที่เป็นบวกที่อายุ 14 สัปดาห์อาจเกิดจากแอนติบอดีจากแม่ที่ยังอาจหลงเหลืออยู่ในลูกสุกรบางตัว ซึ่งการติดเชื้อแบบที่เกิดขึ้นในฟาร์ม B พบได้ทั่วไปในฟาร์มสุกรของประเทศไทยที่ยังไม่สามารถกำจัดโรคพิษสุนัขบ้าเทียมออกจากฟาร์มได้ เนื่องจากยังมีการขับเชื้อโรคพิษสุนัขบ้าเทียมออกจากแม่สุกรที่ติดเชื้อ โดยเฉพาะแม่สุกรนางอายุมากไปยังลูกสุกร ดังนั้นเมื่อมีการรวมลูกสุกรหลังหย่านม หรือช่วงลงขุน จะทำให้ลูกสุกรที่มีเชื้อมีโอกาสการแพร่โรคไปยังลูกสุกรไวรับ ซึ่งภาพของระบบการเลี้ยงแบบต่อเนื่องในประเทศไทยที่มีสุกรทุกอายุอยู่ในบริเวณเดียวกันจะเป็นเช่นเดียวกับผลการตรวจด้วยวิธีอีไลซ่าในฟาร์ม A

ดังนั้นการลดการขับไวรัสสามารถทำได้โดยการวางโปรแกรมวัคซีนที่เหมาะสม ซึ่งในฟาร์มที่มีความชุกของโรคพิษสุนัขบ้าเทียมอยู่ จำเป็นต้องใช้วัคซีนชนิดเชื้อเป็นในการควบคุมโรคดังที่ได้กล่าวมาแล้ว อย่างไรก็ตามการให้วัคซีนไม่สามารถป้องกันการติดโรคได้ แต่จะสามารถลดอาการทางคลินิกเมื่อมีการติดโรคและลดการขับเชื้อลงได้ การวางโปรแกรมวัคซีนที่เหมาะสมควรคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการให้วัคซีน เช่น ระดับแอนติบอดีจากแม่ ความพร้อมของสุขภาพสุกรในขณะที่ได้รับวัคซีน และความเครียดในช่วงอายุต่างๆ รวมทั้งชนิดของวัคซีนที่ใช้ เป็นต้น ร่วมกับการนำเข้าแม่สุกรสาวทดแทนที่ปลอดโรค คัดทิ้งแม่สุกรอายุมากและพ่อสุกรที่มีการติดเชื้อแบบแฝงเรื้อรัง ลดโอกาสการสัมผัสโรคในสุกรแต่ละอายุ โดยการจัดการแบบเข้าหมด ออกหมด และมีการวางโปรแกรมวัคซีนที่เหมาะสม ทั้งในฝูงสุกรพันธุ์และลูกสุกร ซึ่งจะทำให้ความชุกของโรคพิษสุนัขบ้าเทียมค่อยๆ ลดลงจนปลอดโรคในที่สุด

บรรณานุกรม

ราชบัณฑิตยสถาน 2548 ศัพท์บัญญัติ อังกฤษ-ไทย และไทย-อังกฤษ ฉบับราชบัณฑิตยสถาน รุ่น 1.1 ในรูปแบบซีดีรอม http://www.royin.go.th

ระพี ปัญญาทอง 2547 ประสิทธิผลของวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นในสุกรหย่านม วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาพยาธิชีววิทยาทางสัตวแพทย์ ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย 60 หน้า

Ameri-Mahabadi, M., Zhou, E.M. and Hsu, W.H. 2005. Comparison of two swine Mycoplasma hyopneumoniae enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies from vaccinated pigs and field serum samples. J. Vet. Diagn. Invest. 17(1): 61-4.

Elbers, A.R., Tielen, M.J.M., Cromwijk , W.A.J. and Hunneman, W.A. 1992. Variation in seropositivity for some respiratory disease agents in finishing pigs: epidemiological studieson some health parameters and farm and management conditions in the herds. Veterinary Quarterly. 14(1): 8-13.

Kinker, D.R., Swenson, S.L., Wu, L.L. and Zimmerman, J.J. 1997. Evaluation of serological tests for the detection of pseudorabies gE antibodies during early infection. Vet. Microbiol. 55(1-4): 99-106.

Miller, G.Y., Tsai, J.S. and Forster, D.L. 1996. Benefit-cost analysis of the national pseudorabies virus eradication program. J. Am. Vet. Med. Assoc. 208(2): 208-213.

Nilubol, D., Platt, K.B., Halbur, P.G., Torremorell, M. and Harris, D.L. 2004. The effect of a killed porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) vaccine treatment on virus shedding in previously PRRSV infected pigs. Vet. Microbiol. 102(1-2): 11-18.

OIE (Office International des Epizooties) 2005. List of tests for international trade: http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/A_00005.htm

Pasick, J. 2004. Application of DIVA vaccines and their companion diagnostic tests to foreign animal disease eradication. Anim. Health Res. Rev. 5(2): 257-262.

Paul, P.S. and Mengeling, W.L. 1986. Vaccination of swine with an inactivated porcine parvovirus vaccine in the presence of passive immunity. J. Am. Vet. Med. Assoc. 188(4): 410-413.

Rothschild, M.F., Hill, H.T., Christian, L.L. and Warner, C.M. 1984. Genetic differences in serum-neutralization titers of pigs after vaccination with pseudorabies modified live-virus vaccine. Am. J. Vet. Res. 45(6): 1216-1218.

Snyder, M.L. 1997. Quantitative PRRS ELISA: A decision making tool. IDEXX Laboratories, Inc., Westbrook, Maine USA. 42 pages

Terpstra, C. and Wensvoort, G. 1988. The protective value of vaccine-induced neutralising antibody titres in swine fever. Vet. Microbiol. 16(2): 123-128.

Thacker, B., Thacker, E., Halbur, P., Minion, F., Young, T., Erickson, B. and Thanawongnuwech, R. 2000. The influence of maternally-derived antibodies on *Mycoplasmal hyopneumoniae* infection. The 16th International Pig Veterinary Society Congress, Melbourne, Australia.

Thanawongnuwech, R., Thacker, E.L. and Halbur, P.G. 1997. Influence of pig age and strain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) on virus titer and bactericidal activity of porcine pulmonary intravascular macrophages (PIMs): In vitro comparisons with pulmonary alveolar macrophages (PAMs). Vet. Microbiol. 63(2-4): 177-187.

Tyler, J.W. and Cullor, J.S. 1989. Titers, tests, and truisms: rational interpretation of diagnostic serologic testing. J. Am. Vet. Med. Assoc. 194(11): 1550-1558.

Wongwatcharadumrong, R. and Platt, K.B. 1995. Preliminary survey of pseudorabies virus prevalence in swine herds of Thailand and comparison of the relative efficacy of gl indirect and blocking ELISAs. Trop. Anim. Health Prod. 27(2): 83-88.

Zimmerman, J.J., Hill, H.T., Beran, G.W., and Meetz, M.C. 1990. Serologic diagnosis of encephalomyocarditis virus infection in swine by the microtiter serum neutralization test. J. Vet. Diagn. Invest. 2:347-350.

Zimmerman, J.J., Owen, W.J.,Hill, H.T., and Beran, G.W. 1991. Seroprevalence of antibodies against encephalomyocarditis virus in swine in Iowa. J. Am. Vet. Med. Assoc. 199:1737-1741.