รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การผลิตสุกรทดแทนปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอสจากฟาร์มติดเชื้อพีอาร์อาร์เอส

โดย ผศ.น.สพ.ดร. เดชฤทธิ์ นิลอุบล และคณะ

ธันวาคม 2553

สัญญาเลขที่ IUG5080001

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการ การผลิตสุกรทดแทนปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอสจากฟาร์มติดเชื้อพีอาร์อาร์เอส

คณะผู้วิจัย

ผศ.น.สพ.ดร. เดชฤทธิ์ นิลอุบล

ผศ.น.สพ.ชาตร คติวรเวช

นางสาว ธิติมา ไตรพิพัฒน์

คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สนับสนุนโดย สำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

สารบัญ

	หน้าที่
Executive summary	1
บทคัดย่อ	3
บทที่ 1 วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง (Literature Review)	5
บทที่ 2 ระเบียบวิธีวิจัย (Materials and Methods)	17
บทที่ 3 ผลการวิจัย อภิปรายและข้อเสนอแนะ ปัญหาที่พบ	27
กิตติกรรมประกาศ	35
บรรณานุกรม	36
ภาคผนวก	40
บทความสำหรับการเผยแพร่	40
- แนวทางการผลิตฝุ่งสุกรปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอส	
กิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการนำผลจากโครงการไปใช้ประโยชน์	42
- ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ	
- ผลงานวิจัยที่นำเสนอในงานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ	
ผลจากงานวิจัยและการนำไปใช้ประโยชน์	43
การเชื่อมโยงทางวิชาการกับนักวิชาการอื่นๆ ทั้งในและต่างประเทศ	44
จำนวนและรายละเอียดการได้รับเชิญไปเป็นวิทยากร	45

สารบัญภาพ

หน้าที่

ภาพที่ 1 แสดงภาพถ่ายทางอากาศแผนผังฟาร์มสุกร 18

ภาพที่ 2 แสดงขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยช่วงที่ 1 20

ภาพที่ 3 แสดงขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยช่วงที่ 2 22

ภาพที่ 4 แสดงขั้นตอนการการผลิตสุกรทดแทนปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอสจากฟาร์มติดเชื้อพีอาร์อาร์เอส 30

สารบัญตาราง

หน้าที่

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบวัตถุประสงค์และผลที่ได้รับ 43

Executive summary

โครงการวิจัย การผลิตสุกรทดแทนปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอสจากฟาร์มติดเชื้อพีอาร์อาร์เอส

ผศ.น.สพ.ดร. เดชฤทธิ์ นิลอุบล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพฯ

ฟาร์มสุกรในประเทศไทยมากกว่า 80% ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ทำให้ผลผลิตเช่นจำนวนสุกรผลิตได้ต่อแม่ต่อปีลดลง ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสุกรต่อตัวสูงขึ้น วิธีการกำจัดโรคพีอาร์อาร์เอสออกจากฝูงที่ดีที่สุดคือ การคัดทิ้งสุกรทั้งฝูง (Total depopulation) หรือปิดฝูง (Herd closure) และทดแทนด้วยแม่สุกรปลอดเชื้อ (Repopulation) แต่ปัจจุบันประเทศไทยไม่มีแม่สุกรปลอดเชื้อจำหน่าย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อผลิตลูกสุกรที่ปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเพื่อเป็นแม่พันธุ์ทดแทน และนำเข้าทดแทนฝูงสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเพื่อให้กลายเป็นฝูงที่ปลอดจากเชื้อพีอาร์อาร์เอส

โครงการวิจัยนี้แบ่งออกเป็นสามช่วงคือ ช่วงที่หนึ่งเป็นการศึกษาปัจจัยที่ช่วยให้สามารถผลิตลูกสุกรที่ปลอดเชื้อ ช่วงที่สองเป็นการผลิตลูกสุกรที่ปลอดเชื้อ และช่วงที่สามเป็นการนำสุกรปลอดเชื้อเข้าทดแทนในฝูงสุกรที่มีการติดเชื้อเพื่อให้กลายเป็นฝูงสุกรปลอดเชื้อ โดยผลผลิต (output) ของโครงการวิจัยเมื่อสิ้นสุดปีที่ 1 คือ ได้รูปแบบและวิธีการที่ใช้ตรวจแม่สุกรเพื่อผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอส และเป็นลูกสุกรปลอดเชื้อที่สามารถเป็นสุกรทดแทนที่ปลอดเชื้อได้ และผลผลิต (out put) ของโครงการวิจัยเมื่อสิ้นสุดปีที่ 2 คือ ได้ฟาร์มสุกรที่ปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอส

ดำเนินงานวิจัยในฟาร์มสุกรปู่ย่าพันธุ์ (Great grant parent, GGP) และ สุกรพันธุ์แท้ (Grand parent, GP) ที่มีจำนวนแม่สุกรประมาณ 1,200 แม่ เป็นฟาร์มที่มีการเลี้ยงแบบระบบหนึ่งจุดการผลิต (One-site production system) โดยเลี้ยงแม่พันธุ์ สุกรอนุบาลและ ขุน อยู่ในบริเวณเดียวกัน เริ่มการศึกษาในช่วงที่หนึ่ง โดยเจาะเลือดแม่สุกรทุกท้องจำนวน 100 ตัว ที่อายุตั้งท้อง 12 และ 14 สัปดาห์ และเจาะเลือดลูกสุกรทุกตัวที่คลอดจากแม่เหล่านี้ที่ช่วงอายุประมาณ 1 และ 3 สัปดาห์ นำเลือดแม่สุกรมาตรวจหาปริมาณแอนติบอดี้โดยวิธี ELISA (Idexx ELISA, USA) และนำส่วนเลือดลูกสุกรมาตรวจทั้งระดับแอนติบอดี้ และเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี PCR นำข้อมูลต่างๆเช่น อายุท้องของแม่สุกร ระดับแอนติบอดี้ของแม่และลูกสุกร และเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในลูกสุกร มาหาความสัมพันธ์ทางสถิติ (linear regression)

ผลการวิจัยในช่วงแรกพบว่าการผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อไม่สัมพันธ์กับอายุท้องของแม่สุกร ระดับแอนติบอดี้ของแม่และลูกสุกร แต่สัมพันธ์กับการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในลูกสุกร และสายพันธุ์แม่สุกร การศึกษาในช่วงที่สองได้นำรูปแบบการตรวจเลือดที่ได้จากการศึกษาช่วงแรก การคัดเลือกแม่และลูกสุกรจากค่าผลเลือด และเพิ่มเติมการตรวจระดับแอนติบอดี้ในลูกสุกรที่อายุ 5 8 และ 20 สัปดาห์ ผลการวิจัยในช่วงที่ 2 สามารถผลิตสุกรทดแทนปลอดเชื้อได้ และพบว่า ถ้าสุกรที่อายุประมาณ 8 สัปดาห์ไม่มีระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อ ลูกสุกรนั้นจะเป็นลูกที่ปลอดเชื้อ และสามารถเป็นสุกรทดแทนที่ปลอดเชื้อเมื่อผลิตสุกรทดแทนปลอดเชื้อที่มีปริมาณเพียงพอ ได้เริ่มส่งทดแทนเข้าฝูงแม่พันธุ์เดิม และก่อนส่งเข้าทดแทน ได้มีการตรวจสอบการปล่อยเชื้อไวรัสในฝูงแม่พันธุ์โดยใช้ sentinel และเมื่อพบว่า sentinel ยังคง

รักษาสภาวะปลอดเชื้อ จึงทดแทนฝูงแม่พันธุ์ด้วยแม่ทดแทนปลอดเชื้อ ทำให้ผลการวิจัยในช่วงที่ 3 พบว่าสามารถผลิตฟาร์มสุกรปลอดเชื้อได้ แต่อย่างไรก็ตาม ทางทีมผู้วิจัยพบว่า การผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อและปรับสภาพฟาร์มให้เป็นฝูงปลอดเชื้อ มีค่าใช้จ่ายสูงและมีความเสี่ยงต่อการเกิดการระบาดซ้ำ อาจไม่เหมาะกับเกษตรกรทั่วไป แต่เหมาะสำหรับฟาร์มขนาดใหญ่และฟาร์มผลิตสุกรพันธุ์เพื่อจำหน่ายแก่เกษตรกร ผู้วิจัยจึงได้พัฒนาระบบ PigImmunoFlow™ เพื่อให้มีความเหมาะสมต่อการควบคุมโรคไวรัสพีอาร์อาร์เอส แก่เกษตรกรเหล่านี้

บทคัดย่อ

การผลิตสุกรทดแทนปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอสจากฟาร์มติดเชื้อพีอาร์อาร์เอส

ผศ.น.สพ.ดร. เดชฤทธิ์ นิลอุบล คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ฟาร์มสุกรในประเทศไทยมากกว่า 80% ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ผลผลิตตกต่ำส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสุกรต่อตัวสูง วิธีกำจัดโรคพีอาร์อาร์เอสที่ดีที่สุดคือ การคัดทิ้งสุกรทั้งฝูง (Total depopulation) หรือปิดฝูง (Herd closure) และทดแทนด้วยแม่สุกรปลอดเชื้อ (Repopulation) แต่ปัจจุบันประเทศไทยไม่มีแม่สุกรปลอดเชื้อจำหน่าย งานวิจัยจึงมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเพื่อเป็นแม่พันธุ์ทดแทน และนำเข้าทดแทนฝูงสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสให้กลายเป็นฝูงที่ปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

แบ่งการวิจัยเป็น 3 ช่วงคือ ช่วงที่ 1 ศึกษาปัจจัยที่ช่วยให้สามารถผลิตลูกสุกรที่ปลอดเชื้อ ช่วงที่ 2 ผลิตลูกสุกรที่ปลอดเชื้อ และช่วงที่ 3 นำสุกรปลอดเชื้อเข้าทดแทนในฝูงสุกรที่ติดเชื้อเพื่อให้เป็นฟาร์มปลอดเชื้อ ดำเนินงานวิจัยในฟาร์มสุกรปู่ย่าพันธุ์และพันธุ์แท้ขนาด 1,200 แม่ แบบระบบหนึ่งจุดการผลิต (One-site production system) ที่มีแม่พันธุ์ สุกรอนุบาลและ ขุน อยู่ในบริเวณเดียวกัน ฟาร์มเคยผ่านการระบาดของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสอย่างรุนแรง เริ่มการศึกษาในช่วงที่ 1 โดยเจาะเลือดแม่สุกรทุกท้องจำนวน 100 ตัว ก่อนคลอดและลูกสุกรที่อายุ 1 และ 3 สัปดาห์ วัดระดับแอนติบอดี้ในแม่สุกรโดยวิธี ELISA (Idexx ELISA, USA) และวัดระดับแอนติบอดีโดยวิธี ELISA และไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี PCR ในลูกสุกร นำข้อมูล ระดับแอนติบอดี้ของแม่และลูกสุกร เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในลูก สายพันธุ์และลำดับท้องแม่สุกร มาหาความสัมพันธ์ทางสถิติ และพบว่าการผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อไม่สัมพันธ์กับลำดับท้องแม่สุกร แอนติบอดี้ของแม่และลูกสุกร แต่จะสัมพันธ์กับการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในลูกสุกรและสายพันธุ์แม่สุกร

นำรูปแบบการคัดเลือกแม่และลูกสุกรจากค่าผลเลือดจากช่วงที่ 1 มาใช้ในการผลิตสุกรปลอดเชื้อและเพิ่มเติมในการตรวจระดับแอนติบอดี้ในลูกสุกรทุกเดือนจนอายุ 20 สัปดาห์ ก่อนเริ่มการศึกษา ได้คัดทิ้งสุกรอนุบาลทั้งหมด (nursery depopulation) และหยุดการทดแทนสุกร 2 เดือน (herd closure) โดยผลการวิจัยช่วงที่ 2 พบว่า สามารถผลิตสุกรปลอดเชื้อได้ และถ้าสุกรอายุ 8 สัปดาห์ไม่มีระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อสุกรจะปลอดเชื้อจนสามารถเป็นสุกรทดแทนได้ เมื่อผลิตสุกรทดแทนปลอดเชื้อที่มีปริมาณเพียงพอจึงตรวจสอบการปล่อยเชื้อไวรัสในฝูงแม่พันธุ์โดยใช้ sentinel และsentinel ยังคงรักษาสภาวะปลอดเชื้อจึงส่งทดแทนเข้าฝูงแม่พันธุ์เดิม ทำให้ผลการวิจัยในช่วงที่ 3 พบว่าสามารถผลิตฟาร์มสุกรปลอดเชื้อได้ภายใน 18 เดือน

Abstract

Production of PRRS virus negative replacement stock from a PRRS virus positive herd

Dachrit Nilubol, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University

Majority of Thai swine herds are PRRS virus positive resulting and negative replacement gilts are not available commercially resulting in PRRS virus eradication through total depopulation and repopulation with negative replacement, and herd closure not possible. The objective of the study was to produce PRRSV negative replacement stock from PRRSV positive herd.

The study was conducted in 3 phases. The phase I was to investigate factors associated with the production of negative replacement stock from PRRSV positive herd. The Phase II was to produce negative replacement stock and the Phase III was to produce the PRRSV negative herd. The study was performed in a Great grand parent (GGP) and Grand parent (GP) herd with an inventory of 1,200 sows operating one-site production system, which sows herd, nursery and finishing pigs are in the same site. The herd previously experienced sever PRRSV outbreak. Blood was collected from 100 multiparous sows at 2 weeks pre-farrowing and assayed for antibody by ELISA. Blood was collected from pigs farrowed from the sows at 1 and 3 weeks of age and assayed for antibody by ELISA and virus by PCR. All antibody and PCR results and sow data including parity and maternal line were analyzed using linear regression model. The results demonstrated that the production of negative pigs related to infection status of pigs and maternal line, but not related with antibody level, both in pre-farrowing sows and pigs.

The method developed from the Phase I was used to produce pigs for the Phase II. Prior to conduct the study nursery was depopulation and herd was closed from gilt introduction for 2 month. The results of the Phase II demonstrated the production of negative pigs. If pigs are PRRSV negative, they will remain serologically negative until becoming gilt replacement. Sentinel was used to detect the shedding status of the sow herd 2 month prior to negative stock introduction. The negative gilt introduction occurred following sentinel remaining serologically negative. The positive sow herd was replaced with negative replacement stock at 60% per year and become serologically PRRSV negative within 18 month.

บทที่ 1

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง (Literature Review)

อุบัติการณ์ของโรคพีอาร์อาร์เอส

ในประเทศสหรัฐอเมริกาช่วงปี พ.ศ. 2530 ได้ประสบปัญหาการระบาดของโรคซึ่งไม่ทราบสาเหตุ โดยพบการแท้งลูกในแม่สุกรอุ้มท้องระยะท้าย มีการเพิ่มขึ้นของจำนวนลูกกรอก ลูกสุกรตายแรกคลอด และลูกสุกรอ่อนแอ ทำให้เกิดการสูญเสียต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรเป็นอย่างมาก ซึ่งสาเหตุของโรคในขณะนั้นยังไม่ทราบแน่ชัดจึงมีการเรียกกลุ่มอาการดังกล่าวว่า ‘’Mystery swine disease” (MSD) (Hill, 1990) นอกจากนั้นแล้วยังพบร่วมกับการแสดงอาการผิดปกติของระบบทางเดินหายใจในสุกรอนุบาลและสุกรขุน โดยสุกรที่มีความผิดปกติของระบบทางเดินหายใจจะแสดงอาการหายใจด้วยช่องท้องและมีการคั่งของเลือดที่บริเวณใบหูจึงเป็นที่มาของการเรียกชื่อของโรคตัวนี้ในสุกรขุนว่า “Blue ear disease” หลังจากการอุบัติของโรค Mystery swine disease ในทวีปอเมริกาเหนือไม่นาน จึงพบการระบาดของโรคที่แสดงอาการคล้ายกันในแถบทวีปยุโรป โดยเริ่มพบการระบาดครั้งแรกที่ประเทศเยอรมันในปี พ.ศ. 2533 (Wensvoort et al., 1991) และที่สำคัญยังพบว่าไม่มีความสัมพันธ์ใด ๆที่บ่งบอกถึงการแพร่กระจายของเชื้อที่ทำให้เกิดการระบาดของโรค MSD ที่เยอรมันและสหรัฐอเมริกา หลังจากที่โรคนี้มีการแพร่กระจายและทำให้เกิดการระบาดไปทั่วทำให้มีการเรียกชื่อของโรคแตกต่างกันออกไปขึ้นกับอาการที่สัตว์แสดงออกหรือแหล่งที่เกิดโรคแต่ชื่อเรียกที่มีการยอมรับโดยทั่วไปคือ “Porcine reproductive and respiratory syndrome” (PRRS) และเรียกชื่อนี้มาตั้งแต่ปี พ.ศ. 2534 (Terpstra et al., 1991)

ต่อมาในปี พ.ศ. 2534 ที่ประเทศเนเธอร์แลนด์ สามารถแยกเชื้อที่ทำให้เกิดอาการโรคได้เป็นครั้งแรกและตั้งชื่อว่า Lelystad virus (LV) (Wensvoort et al., 1992a; Wensvoort et al., 1992b) ตัวไวรัสที่สามารถแยกได้นี้กลายมาเป็นต้นแบบของไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ยุโรป (European prototype) หลังจากการแยกเชื้อได้ในทวีปยุโรปไม่นาน ประเทศสหรัฐอเมริกาก็สามารถแยกเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดอาการโรคในทวีปอเมริกาได้ และให้ชื่อว่า Swine infertility and respiratory syndrome virus (SIRS) ต่อมากำหนดชื่อเชื้อไวรัสที่แยกได้เป็นครั้งแรกว่า ATCC VR-2332 (Collins et al., 1992) ซึ่งไวรัสที่ได้นี้ก็มาเป็นต้นแบบของไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์อเมริกาเหนือ (North America prototype)

ลักษณะเชื้อ

โรคพีอาร์อาร์เอสเกิดจากการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ซึ่งเป็นอาร์เอ็นเอไวรัสสายเดี่ยวและมีเปลือกหุ้ม (Collins et al., 1992; Wensvoort et al., 1992b) ที่จัดอยู่ใน genus *Arterivirus* ตระกูล *Arteriviridae* (Cavanagh, 1997) ไวรัสพีอาร์อาร์เอส เป็น อาร์เอ็นเอไวรัส ชนิดสายเดี่ยวแบบสายบวก (positive sense single stranded RNA virus) จีโนมของไวรัสพีอาร์อาร์เอสมีมวลโมเลกุล 15 kDa โดยประกอบด้วย 8 open reading frames (ORFs) (Cavanagh, 1997) ORFs 1a และ 1b เป็นส่วนของ

non-structural protein (Nsp) ทำหน้าที่เป็น replicase-related protein ควบคุมการเพิ่มจำนวนของไวรัส ส่วน ORFs 2-7 เป็นส่วนของ structural protein โดยมีรายละเอียดดังนี้ ORF 2 มีขนาด 29-50 kDa มีการแสดงออกของยีนเป็น glycoprotein (GP) อธิบายว่า GP คืออะไร 2 ORF 3 มีขนาด 45-50 kDa มีการแสดงออกของยีนเป็น GP3 ORF 4 มีขนาด 31-35 kDa มีการแสดงออกของยีนเป็น GP4 ORF 5 มีขนาด 25 kDa มีการแสดงออกของยีนเป็น GP5 ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่มีความแตกต่างกันมากที่สุดของไวรัสแต่ละสายพันธุ์ และเป็นส่วนที่มีบทบาทสำคัญที่ไวรัสใช้ในการติดเชื้อเข้าสู่เซลล์ด้วยดังนั้นโปรตีนส่วนนี้จึงมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันแบบนิวทรัลไลซ์ซิ่งแอนตีบอดี (Pirzadeh and Dea, 1998) ORF 6 มีขนาด 18 kDa มีการแสดงออกของยีนเป็น matrix (M) protein ซึ่งจะมีบทบาทสำคัญในการประกอบตัวของไวรัส (virus assembly) ORF 7 มีขนาด 15 kDa มีการแสดงออกของยีนเป็น nucleocapsid (N) protein (Meulenberg, 2000; Meulenberg et al., 1997)

ไวรัสพีอาร์อาร์เอส สามารถแบ่งออกเป็น 2 สายพันธุ์หลัก (Genotypes) คือ สายพันธุ์อเมริกาเหนือ (North American genotype หรือ Genotype II) และ สายพันธุ์ยุโรป (European genotype หรือ Genotype I) ตามทวีปที่มีการค้นพบครั้งแรก โรคพีอาร์อาร์เอส พบครั้งแรกที่ประเทศอเมริกาเมื่อประมาณปี คศ.1987 (Hill, 1990) ส่วนในยุโรปพบกลุ่มอาการที่คล้ายๆกันในปี คศ.1990 ในช่วงแรกยังไม่สามารถหาสาเหตุของการเกิดโรคได้ จนกระทั่งในปี คศ.1991 กลุ่มนักวิจัยของสถาบัน Lelystad ในประเทศเนเธอร์แลนด์ สามารถแยกเชื้อที่ทำให้เกิดโรคได้เป็นครั้งแรก โดยพบว่าเป็นเชื้อไวรัสและทำการตั้งชื่อว่า Lelystad virus ซึ่งจัดเป็นต้นแบบของไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ยุโรป (Wensvoort et al., 1991) ส่วนประเทศสหรัฐอเมริกา สามารถแยกเชื้อที่ทำให้เกิดโรคได้ในปีถัดมา โดยให้ชื่อว่า VR-2332 ซึ่งจัดเป็นต้นแบบของไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์อเมริกา (Collins et al., 1992) ไวรัสพีอาร์อาร์เอสแบ่งออกเป็น 2 สายพันธุ์หลัก คือสายพันธุ์อเมริกา และสายพันธุ์ยุโรป สำหรับประเทศไทย พบการติดเชื้อพีอาร์อาร์เอส ตั้งแต่ปี คศ.1989 และสามารถแยกเชื้อไวรัส ได้เป็นครั้งแรกในปีคศ. 1996 เป็นไวรัสสายพันธุ์อเมริกา ประเทศไทยพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ได้ทั้งสายพันธุ์อเมริกา และสายพันธุ์ยุโรป เมื่อประมาณปี คศ. 2004 พบว่ามีสายพันธุ์ยุโรป อยู่ประมาณ 66.42% และมีสายพันธุ์อเมริกาอยู่ประมาณ 33.58% (Thanawongnuwech et al., 2004) แต่ในสถานะการปัจจุบันน่าจะมีการเปลี่ยนแปลงไป

การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม

เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถแบ่งออกเป็น 2 สายพันธุ์หลัก คือสายพันธุ์อเมริกาเหนือ และสายพันธุ์ยุโรป โดยเชื้อทั้งสองสายพันธุ์นี้มีความเหมือนกันน้อยมาก

ลักษณะการก่อโรคที่สำคัญของไวรัสพีอาร์อาร์เอสคือ การที่ตัวไวรัสเองมีความแตกต่างทางพันธุกรรมที่ค่อนข้างสูงด้วยลักษณะสายพันธุกรรมที่เป็นอาร์เอ็นเอขนาดสั้น โดยเรียกลักษณะของไวรัสเช่นนี้ว่า Quasispecies (Goldberg et al., 2003) ซึ่งเกิดจากลักษณะการทำงานของเอนไซม์โพลีเมอเรสที่ผิดพลาดในขณะที่ไวรัสมีการเพิ่มจำนวนภายในเซลล์ ทำให้ไวรัสลูกหลาน (progeny viruses) มี

ลักษณะแตกต่างไปจากไวรัสต้นแบบ ทั้งทางพันธุกรรม (genetic variation) และการเป็นแอนติเจน (antigenic variation) (Goldberg et al., 2003) โดยความหลากหลายทางพันธุกรรมนี้จะเกิดขึ้นในบริเวณ ORF 5 ของไวรัสซึ่งจะทำให้ ส่วนของ GP5 ซึ่งส่วนนี้เองเป็นส่วนที่เป็นเป้าหมายที่สำคัญในการสร้างนิวทรัลไลซ์ซิ่งแอนตีบอดี การเกิดการผ่าเหล่าของสายพันธุกรรมของไวรัสที่ตำแหน่งนี้จะมีผลทำให้ลักษณะของโปรตีนที่เป็นเป้าหมายในการสร้างนิวทรัลไลซ์ซิ่งแอนตีบอดีเปลี่ยนไปทำให้แอนตีบอดีที่สร้างจากไวรัสต้นแบบไม่สามารถนิวทรัลไลซ์ไวรัสลูก (progeny viruses) ได้ ซึ่งก็เป็นส่วนหนึ่งในกระบวนการคัดเลือกตามธรรมชาติเพื่อการอยู่รอดของไวรัส นอกจากธรรมชาติของไวรัสที่มีการกลายพันธุ์ด้วยตนเองดังที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว ไวรัสยังสามารถเกิดการรวมกันทางพันธุกรรม (genetic recombination) กับไวรัสต่างสายพันธุ์ได้ (Yuan et al., 1999)

ลักษณะโรค

โรคพีอาร์อาร์เอสเป็นโรคติดเชื้อทางระบบสืบพันธุ์และระบบทางเดินหายใจของสุกร ที่ในปัจจุบันยังคงเป็นปัญหาหลักที่สร้างความเสียหายแก่อุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรทั่วโลก โดยประสิทธิภาพการผลิตสุกรของฟาร์มที่มีการติดเชื้อจะลดต่ำลง เนื่องจากการติดเชื้อในแม่พันธุ์จะทำให้พบปัญหาการแท้งในแม่สุกรทุกระยะของการตั้งท้อง การกลับสัดไม่ตรงรอบ ลูกกรอก ลูกแรกคลอดอ่อนแอ และตายสูงเนื่องจากอัตราการตายที่เพิ่มสูงขึ้นมากในหมูช่วงอนุบาล ถึงหมูรุ่นขุน จากอาการป่วยด้วยโรคในทางเดินหายใจ และมักพบการติดเชื้อแทรกซ้อนร่วมกับ เชื้อแบคทีเรียหรือเชื้อไวรัสชนิดชนิดอื่น ๆ zimmerman

สุกรที่ติดเชื้อพีอาร์อาร์เอสจะแสดงอาการในสองระบบคือ ระบบสืบพันธุ์และระบบทางเดินหายใจ (Christianson, 1992; Yoon et al., 1992) (Yoon et al., 1995) ปัญหาทางระบบสืบพันธุ์จะเกี่ยวข้องกับสุกรพ่อแม่พันธุ์ พบการแท้งในแม่สุกรทุกระยะของการตั้งท้องโดยเฉพาะระยะท้ายมีการเพิ่มขึ้นของลูกกรอก อัตราการตายแรกคลอดสูงขึ้น และลูกสุกรอ่อนแอหลังคลอด รวมถึงปัญหาการกลับสัดในแม่สุกร นอกจากนี้ยังส่งผลให้คุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์ต่ำลง (Mengeling et al., 1996) ส่วนปัญหาของระบบทางเดินหายใจพบได้ในสุกรทุกอายุโดยเฉพาะในสุกรอนุบาล สุกรจะมีอาการไข้สูง หอบ หายใจลำบาก และยังเป็นสาเหตุให้เกิดโรคระบบทางเดินหายใจซับซ้อน (Porcine respiratory disease complex; PRDC) และมักพบว่ามีการแทรกซ้อนของเชื้อต่างๆ เช่น *Streptococcus suis* serotype 2 *Haemophilus parasuis* (Solano et al., 1998) *Salmonella cholerasuis* (Wills et al., 2000) และ *Mycoplasma hyopneumoniae* (Thacker et al., 1999)

ลักษณะการก่อโรคที่สำคัญของไวรัสพีอาร์อาร์เอสคือ การที่ตัวไวรัสเองมีความแตกต่างทางพันธุกรรมที่ค่อนข้างสูง จนกระทั่งได้มีการเรียกว่าเป็น Quasi-species นอกจากนั้นแล้วไวรัสยังสามารถอยู่ในสุกรได้ค่อนข้างนาน (Persistent infection) และ มีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันที่ช้า (Delayed immune response) (Meier et al., 2000)

การปล่อยเชื้อ

สุกรหลังจากที่ได้รับเชื้อจะสามารถตรวจเจอไวรัสในกระแสเลือด (Viremia) ได้ภายใน 24 ชั่วโมง และตรวจเจอได้นานประมาน 6-8 สัปดาห์ หรืออาจจะน้อยกว่านั้นขึ้นอยู่กับอายุ ตัวเชื้อ และปริมาณเชื้อที่ได้รับ แต่อย่างไรก็ตามเชื้อไวรัสสามารถตรวจเจอได้ในอวัยวะอื่นๆ เช่น ปอด ต่อมทอนซิล ต่อมน้ำเหลืองต่างๆ ได้นานกว่านั้น เช่นอาจตรวจเจอเชื้อไวรัสในปอดได้นานถึงประมาณ 60 วัน ส่วนในต่อมทอนซิลตรวจเจอได้นานถึง 154 วัน (Wills et al., 1997) ดังนั้นการตรวจไม่เจอไวรัสในกระแสเลือดไม่ได้หมายความว่าสุกรจะไม่สามารถปล่อยเชื้อได้ (Virus shedding)

การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน

การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อพีอาร์อาร์เอสนั้น พบว่ามีการตอบสนองทั้งภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำ (Humoral immune response; HI) และภูมิคุ้มกันชนิดใช้เซลล์เป็นสื่อ (cell-mediated immunity; CMI) สำหรับการตอบสนองแบบ HMI นั้นพบว่าหลังจากมีการติดเชื้อพีอาร์อาร์เอสแล้วจะสามารถตรวจพบแอนติบอดี้ (antibody) ได้ใน 5-7 วันหลังการติดเชื้อ (Murtaugh et al., 2002) และจากการทดสอบด้วยวิธีอิไลซ่า (Enzyme-linked immunosorbent assay; ELISA) ของ Horter และคณะ (2002) พบว่าปริมาณแอนติบอดี้จะสูงสุดที่ 5-6 สัปดาห์หลังติดเชื้อ และจะคงอยู่เป็นระยะเวลานานกว่า 300 วัน แต่แอนติบอดี้ที่เกิดขึ้นในระยะแรกนั้นไม่สามารถทำลายเชื้อไวรัสที่อยู่ในกระแสเลือดได้ ส่วนแอนติบอดี้ที่มีความสามารถทำลายเชื้อไวรัสในกระแสเลือดได้นั้นจะเป็นชนิดนิวทรัลไลซิ่ง (neutralizing antibody) แต่การตอบสนองของ neutralizing antibody นั้นจะเกิดขึ้นได้อย่างค่อนข้างช้า โดยมักพบหลัง 2-3 สัปดาห์การติดเชื้อ (Murtaugh et al., 2002) การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดใช้เซลล์เป็นสื่อก็จะพบประมาณ 4 – 6 สัปดาห์หลังการติดเชื้อ จะสังเกตุได้ว่าสุกรมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันทั้งชนิดสารน้ำ (Humoral immunity) และชนิดเซลล์ (Cell-mediated immunity) ภายหลังจากการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส แต่ว่าการตอบสนองนั้นเกิดขึ้นช้ามากเมื่อเปรียบเทียบกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อไวรัสชนิดอื่น เช่น การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อโรคพิษสุนัขบ้าเทียม (Pseudorabies) ที่สามารถตรวจเจอภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันโรคได้ ตั้งแต่ 2 อาทิตย์หลังการติดเชื้อ

ในการศึกษาทางภูมิคุ้มกันวิทยานั้นการวัดระดับภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสนั้นสามารถได้หลายวิธี เช่น ELISA, Immunoperoxidase monolayer assay, Indirect fluorescent antibody assay, Serum neutralization (SN) assay แต่วิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุดในปัจจุบันคือวิธี ELISA (Idexx, USA) เนื่องจากเป็นชุดตรวจสอบสำเร็จรูป ซึ่งง่ายต่อการทำงานและการตรวจ แต่วิธีนี้ไม่สามารถบอกถึงระดับภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันการติดเชื้อที่มีอยู่ในสุกรที่ได้ การตรวจโดยวิธี ELISA รูปแบบนี้สามารถบอกได้แต่เพียงว่าสุกรเคยผ่านการติดเชื้อมาแล้วเท่านั้น ส่วนอีกวิธีหนึ่งสามารถบอกถึงระดับภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันการติดเชื้อที่มีอยู่ในสุกรที่ได้ และเป็นที่นิยมใช้กันมากในงานทดลองคือ การตรวจหาระดับของ SN antibody โดยวิธีนี้สามารถบอกได้ว่าสุกรมีระดับภูมิคุ้มกันที่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ แต่ข้อเสียของวิธีนี้คือ วิธีการทำค่อนข้างยุ่งยาก ระดับของแอนติบอดี้ค่อนข้าง

จำเพาะต่อไวรัสตัวใดตัวหนึ่งเท่านั้น ทำให้ในการที่จะดูลักษณะรูปแบบ SN antibody ของฟาร์ม ทำได้ลำบาก เนื่องจากต้องใช้ไวรัสจากในฟาร์ม วิธีนี้นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการและในการทดลองเท่านั้น ซึ่งในที่นี้จะเขียนถึงการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำภายหลังจากการได้รับเชื้อด้วยสองวิธีนี้เท่านั้น

สุกรที่ได้รับเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส สามารถตรวจเจอแอนติบอดี้ได้ตั้งแต่ 5-9 วันหลังการติดเชื้อโดยวิธี ELISA และตรวจเจอได้ในระดับสูงสุดที่ประมาณ 35-49 วันหลังการติดเชื้อ (Yoon et al., 1995) แต่อย่างไรก็ตามแอนติบอดี้ที่ตรวจพบโดยวิธี ELISAนี้ บ่งบอกถึงสภาวะการติดเชื้อเท่านั้น ไม่สามารถบอกถึงสภาวะความคุ้มโรคได้ นอกจากนี้ในขณะที่ตรวจเจอแอนติบอดี้โดยวิธี ELISA นี้ยังสามารถพบเชื้อไวรัสในกระแสเลือดได้ (Viremia) ส่วนการวัดระดับแอนติบอดี้โดยวิธี SN assay นั้น ต้องใช้เวลาประมาณ 28-42 วัน หลังการติดเชื้อ จึงจะมีการตรวจพบแอนติบอดี้ที่เรียกว่า Serum neutralizing (SN) antibodies โดยแอนติบอดี้ชนิดนี้ได้มีการยอมรับว่ามีส่วนสำคัญในการป้องกันโรค (Osorio et al., 2002) แต่ถึงอย่างไรก็ตามแม้จะมี neutralizing antibody ก็ยังคงสามารถพบเชื้อพีอาร์อาร์เอสได้จากการที่มีการติดเชื้อแบบแฝงติดทน (persistent infection) ในเนื้อเยื่อต่างๆ และสุกรยังคงสามารถขับเชื้อได้เป็นระยะๆ (Allende et al., 2000a; Allende et al., 2000b)

นอกจากภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำแล้วยังพบการตอบสนองของภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ภายหลังจากการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสด้วย แต่การตอบสนองเกิดขึ้นช้า ใช้เวลามากกว่า 28 วันจึงจะตรวจเจอ ส่วนการตอบสนองของ CMI นั้นพบว่า มีบทบาทสำคัญในการกำจัดเชื้อที่ติดภายในเซลล์ ซึ่งส่วนของ HMI ไม่สามารถเข้าถึงได้ หลังจากที่ติดเชื้อพีอาร์อาร์เอสจะสามารถพบเซลล์ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) ชนิดทีแบบ helper T-cells (Th) และ cytotoxic T lymphocytes (CTL) ในช่วง 4-12 สัปดาห์ (Meier et al., 2000) นอกจากนี้ lymphocyte ยังสร้างสาร Interferon gamma (IFN-g) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกำจัดเชื้อพีอาร์อาร์เอสจึงมีการ Interferon gamma (IFN-g) นี้เป็นตัวบ่งชี้การตอบสนองของ CMI แต่อย่างไรก็ตามการสร้างอินเตอร์เฟียรอนแกมม่านั้นค่อนข้างใช้เวลานานกว่าปกติ

สำหรับการตอบทางของภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสนั้นสามารถวัดได้โดย การวัดการตอบสนองของเซลล์ลิมโฟไซต์ (lymphocyte) ชนิดแบบ helper T-cells (Th) และ cytotoxic T lymphocytes (CTL) ต่อการกระตุ้นซ้ำด้วยเชื้อไวรัส (Lymphocyte proliferation assay) และการวัดปริมาณของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ผลิตไซโตคายน์ที่ชื่อว่า Interferon gamma (IFN-g) โดยวิธี ELISpot การตอบสนองทางภูมิคุ้มกันโดยการวัดการตอบสนองของเซลล์เม็ดเลือดขาวต่อการกระตุ้นซ้ำ (Lymphocyte proliferation assay) นั้นจะสามารถตรวจเจอการตอบสนองได้ครั้งแรกที่ประมาณ 28 วันหลังจากการติดเชื้อ และจะขึ้นถึงระดับสูงสุดที่ประมาณ 49 วันหลังจากการติดเชื้อ (Meier et al., 2003; Meng, 2000; Zuckermann, 1999; Zuckermann et al., 1998)แต่อย่างไรก็ตามเมื่อวัดภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์โดยวัดปริมาณของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ผลิต Interferon gamma โดยวิธี ELISpot พบว่าจะสามารถตรวจเจอครั้งแรกที่ประมาณ 8-10 สัปดาห์หลังจากการติดเชื้อ (Meier et al., 2003) และพบว่าเจอในปริมาณที่ต่ำมาก และต้องใช้เวลาประมาณ 30 สัปดาห์จนกว่าจะถึงระดับสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ผลิต Interferon gamma หลังจากการติดโรคพิษสุนัขบ้าเทียมพบว่าการตอบสนองของภูมิคุ้มกันชนิดเซลล์ต่อไวรัสพีอาร์อาร์เอสนี้เกิดขึ้นช้ามาก เพราะว่าในการติด

โรคพิษสุนัขบ้าเทียมนั้นระดับของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ผลิต Interferon gamma ขึ้นถึงระดับสูงสุดโดยใช้เวลาประมาณ 2 สัปดาห์เท่านั้น และระดับที่พบก็สูงกว่าระดับสูงสุดที่ 30 สัปดาห์หลังจากการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

ภูมิคุ้มกันข้ามสายพันธุ์

นอกจากนี้แล้วยังพบว่าภูมิคุ้มกันที่เกิดขึ้นจะมีผลป้องกันต่อเชื้อชนิดเดียวกันเท่านั้น (Homologous protection) ส่วน ความคุ้มโรคต่อไวรัสพีอาร์อาร์เอสที่ต่างสายพันธุ์ (Heterologous protection) อาจจะมีบ้างหรืออาจจะไม่มีเลย ขึ้นอยู่กับหลายๆปัจจัยเช่น ความแตกต่างทางพันธุกรรมของไวรัส โดยสรุปสุกรสามารถสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสได้เองแต่ว่าใช้เวลาค่อนข้างช้า นอกจากนั้นแล้วภูมิคุ้มกันที่เกิดจะค่อนข้างจำเพาะ (Mengeling et al., 1999; Mengeling et al., 2003a; Mengeling et al., 2003b)

สุกรที่เคยติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสแล้วพบว่ายังสามารถติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสซ้ำได้ ทั้งจาก isolate เดิมหรือต่าง isolate แต่ระดับความรุนแรงของโรคจะแตกต่างกัน แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันในสุกรที่เคยได้รับเชื้อแล้วมากนัก

วัคซีน

วัคซีนสำหรับป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสที่มีจำหน่ายในประเทศ มีทั้งวัคซีนชนิดเชื้อเป็นและเชื้อตาย โดยวัคซีนชนิดเชื้อเป็นมีทั้งสายพันธุ์อเมริกาเหนือ (Ingelvac PRRS MLV, Boehlinger Ingelheim, USA) และยุโรป (Amervac, Hipra Laboratory, Spain) ส่วนวัคซีนชนิดเชื้อตายมีเพียงสายพันธุ์ยุโรป (Amervac, Hipra Laboratory, Spain) สำหรับการตอบสนองต่อการใช้วัคซีนทั้งชนิดเชื้อเป็น (modified-live vaccine; MLV) และชนิดเชื้อตาย (killed vaccine; KV) ในสุกรนั้นพบว่า เมื่อสุกรได้รับวัคซีนเชื้อเป็นจะมีการกระตุ้นสร้างภูมิคุ้มและการปล่อยเชื้อไวรัสในกระแสเลือดคล้ายกับการติดเชื้อโดยธรรมชาติ กล่าวคือภูมิคุ้มกันชนิดสารน้ำเมื่อวัดโดยวิธี serum neutralizing antibody และภูมิคุ้มกันแบบพึ่งเซลล์เมื่อวัดโดยวิธี ELISPOT เพื่อนับจำนวน Interferron gamma producing cells จะขึ้นช้า โดยประมาณ 4 – 6 สัปดาห์ และพบการขับเชื้อวัคซีนไวรัสในกระแสเลือด (viremia) นานประมาณ 1 เดือน และนอกจากนี้ยังพบว่าสุกรที่ได้รับวัคซีนเชื้อเป็นมีความสามารถที่จะขับเชื้อไวรัส (shedding) และติดต่อไปยังสุกรตัวอื่นได้ (Christopher-Hennings et al., 1997; Christopher-Hennings et al., 1995)

การให้ความคุ้มโรค (protection) หลังจากการฉีดวัคซีนเชื้อเป็นพบว่า สามารถลดปริมาณเชื้อและระยะเวลาในการขับเชื้อในกระแสเลือด (viremia) รวมทั้งอาการทางคลินิกได้ หากได้รับเชื้อพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์เดียวกัน (homologous protection) แต่ประสิทธิภาพของความคุ้มโรค (protection) จะต่ำลงหากได้รับเชื้อพีอาร์อาร์เอสต่างสายพันธุ์ (heterologous protection) (Mengeling et al., 1999; Mengeling et al., 2003a; Mengeling et al., 2003b) ส่วนวัคซีนเชื้อตายพบว่าไม่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มต่อเชื้อพีอาร์อาร์เอสได้ในสุกรที่ไม่เคยได้รับเชื้อมาก่อน (Nilubol et al., 2004) แต่ในทางตรงข้ามกลับ

พบว่าสุกรที่เคยได้รับเชื้อพีอาร์อาร์เอสมาก่อนแล้วได้รับวัคซีนเชื้อเป็นกลับมีระดับภูมิคุ้มไม่เพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากไม่มีการตอบสนองแบบ anamnestic response (Baker et al., 1999) แต่ถ้าได้รับวัคซีนเชื้อตายกลับมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มที่สูงมาก

การวินิจฉัยโรค

การวินิจฉัยโรคพีอาร์อาร์เอสนั้นสามารถทำได้หลายวิธี ทั้งที่วัดระดับแอนติบอดี้ในกระแสเลือดและตรวจหาไวรัสในกระแสเลือดและอวัยวะต่างๆ วิธีที่วัดระดับแอนติบอดี้ในกระแสเลือดที่ได้รับความนิยมสูงคือ ELISA เนื่องจากเป็นชุดตรวจสอบสำเร็จรูป สามารถตรวจตัวอย่างได้ครั้งละมากๆ สะดวกในการคัดกรองโรค มีความไวและความจำเพาะสูง สามารถตรวจระดับภูมิคุ้มกันหลังการติดเชื้อได้ตั้งแต่ 7-14 วัน ส่วนข้อเสียของวิธีนี้คือไม่สามารถบอกได้ว่าแอนติบอดี้ที่เกิดขึ้นนั้น เกิดจากการติดเชื้อโดยธรรมชาติจากการได้รับวัคซีนหรือภูมิต้านทานที่ได้รับจากแม่ได้ ไม่สัมพันธ์กับความคุ้มโรค (protection) และการปล่อยเชื้อไวรัสของสุกร (virus shedding) ส่วนวิธี Serum neutralizing (SN) เป็นวิธีที่วัดระดับแอนติบอดี้มีความจำเพาะต่อเชื้อไวรัส (isolate specific) สามารถวัดระดับที่ถูกต้องเมื่อใช้ไวรัสที่มีความใกล้เคียงกับไวรัสสายพันธุ์ที่ก่อโรค และแอนติบอดี้ที่ตรวจพบวิธี Serum neutralizing (SN) เป็นแอนติบอดี้ที่มีประสิทธิภาพในการคุ้มโรค (protection) และอาจช่วยลดการขับไวรัสออกมาจากตัวสุกรได้ (Nilubol et al., 2004) แต่อย่างไรก็ดี neutralizing antibody นั้นมีการพัฒนาค่อนข้างช้าโดยใช้เวลาประมาณ 1-2 เดือนจึงจะตรวจพบ (Nelson et al., 1994) โดยทั่วไปแล้วนั้นวิธี SN นิยมใช้ในการศึกษาวิจัยมากกว่าที่จะนำมาใช้ในภาคปฏิบัติจริง (Yoon et al., 1995)

นอกจากนั้นยังมีวิธีการตรวจหาไวรัสในกระแสเลือดและอวัยวะต่างๆ โดยวิธีที่นิยมคือ ปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เลส Polymerase chain reaction (PCR) ด้วยเหตุผลคล้ายเคียงกับการตรวจโดยวิธี ELISA เนื่องจากสามารถปฏิบัติได้ง่าย ใช้เวลาน้อยในการตรวจสอบ ตรวจตัวอย่างได้ครั้งละมากๆ สะดวกในการคัดกรองโรค มีความไวและความจำเพาะสูง ส่วนวิธีการแยกเชื้อไวรัส (virus isolation) ไม่เป็นที่นิยมเนื่องจากใช้เวลานาน และสิ้นเปลืองแรงงาน

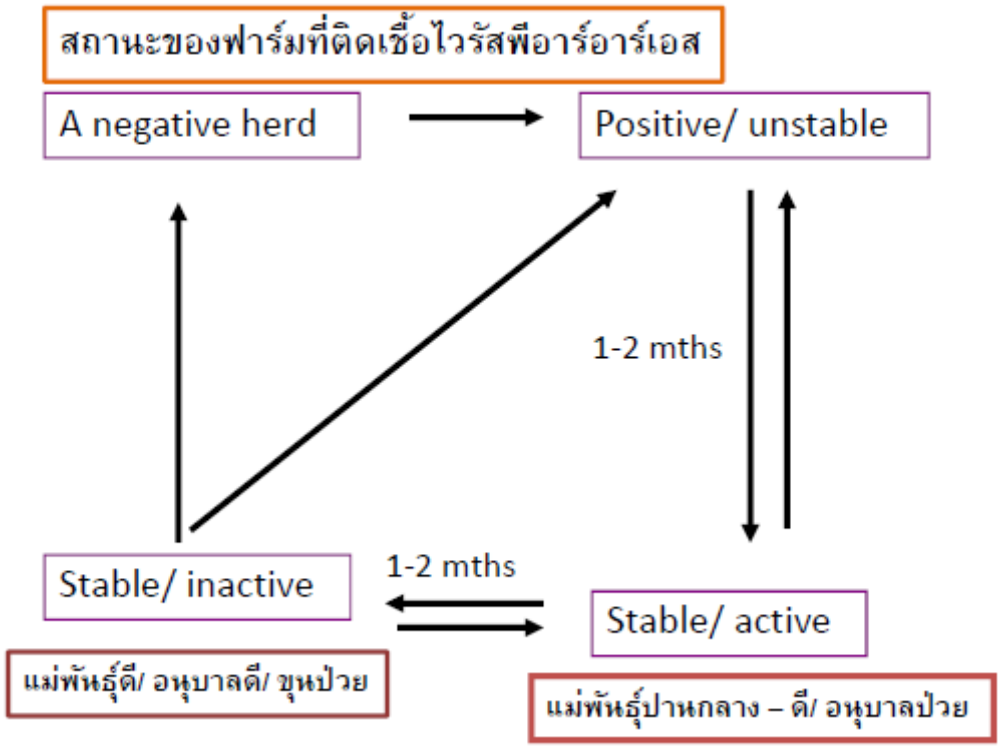
การแบ่งประเภทฟาร์มที่มีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

ฟาร์มส่วนใหญ่ในประเทศไทยมากกว่า 80 % มีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส แต่ความรุนแรงและอาการของโรคขึ้นอยู่กับช่วงอายุและเวลาในการติดเชื้อ โดยปรกติสามารถแบ่งประเภทฟาร์มตามที่มีลักษณะการติดเชื้อพีอาร์อาร์เอสได้ 4 รูปแบบคือ

1. ฝูงสุกรปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส (Negative herd)
2. ฝูงสุกรที่กำลังเกิดการระบาดหรือฝูงที่ไม่นิ่ง (Positive unstable)
3. ฝูงสุกรที่นิ่งแต่ยังพบการถ่ายเชื้อ (Stable/ active)
4. ฝูงสุกรที่นิ่งและไม่พบการถ่ายเชื้อ (Stable/ inactive)

ฟาร์มรูปแบบที่ 1 คือ negative farm เป็นฟาร์มปลอดเชื้อและไม่พบไวรัสภายในฝูงสุกร ฟาร์มรูปแบบที่ 2 คือ unstable farm เป็นฟาร์มที่กำลังประสบปัญหาโรคพีอาร์อาร์เอส (Acute outbreak) พบการเสียหายทั้งแม่สุกรและลูกสุกร สามารถตรวจพบไวรัสในฝูงสุกรทั้งแม่พันธุ์และสุกรขุน และพบการตอบสนองต่อซีรั่มวิทยา ฟาร์มรูปแบบที่ 3 คือ stable/active farm คำว่า stable จะหมายถึงแม่สุกรที่ไม่มีปัญหาแต่ active หมายถึงลูกสุกรยังคงเสียหาย โดยพบลักษณะ seroconvert ที่ช่วงท้ายของสุกรอนุบาลหรือช่วงระยะต้นของการลงขุน และ ฟาร์มรูปแบบที่ 4 คือ stable/inactive farm เป็นสถานะที่ไม่พบการเสียหายทั้งแม่สุกรและลูกสุกร รวมทั้งไม่พบลูกสุกรได้รับไวรัสจากแม่

โรคพีอาร์อาร์เอสหลังจากเกิดการระบาดภายในฝูงสุกร พบว่า ไวรัสพีอาร์อาร์เอสยังคงหมุนเวียนอยู่ภายในฝูงสุกร สามารถพบเชื้อไวรัสได้ที่ช่วงอายุสุกรแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสถาวะการติดเชื้อไวรัสของฟาร์ม ฉะนั้นจึงสามารถแบ่งฝูงสุกรตามสถานการณ์ได้ 4 สถานะ ตามภาพดังนี้



ลักษณะของฟาร์มที่พบการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

การควบคุมและกำจัดโรคพีอาร์อาร์เอส

เมื่อฝูงสุกรติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ฝูงสุกรจะมีการติดเชื้อไวรัสแบบทนนาน (persistent infection) และเชื้อไวรัสสามารถสร้างความเสียหายแก่ผลผลิตของฟาร์มอย่างต่อเนื่อง หลายๆฝ่ายที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมการผลิตสุกร จึงนำมาตรการการจัดการระบบการผลิตสุกรแบบต่างๆ มา

ประยุกต์ใช้เพื่อกำจัดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสออกจากฝูงสุกร มาตรการการจัดการระบบต่างๆเหล่านั้น ประกอบด้วยวิธีการดังต่อไปนี้

- คัดทิ้งบางส่วน (Partial depopulation)
- คัดทิ้งทั้งฟาร์ม นำเข้าหมูใหม่ที่ไม่มีเชื้อ (Total depopulation and repopulation with PRRSV negative pigs)
- ตรวจสอบและคัดทิ้ง (Test and Removal)
- การปิดฝูงและการทดแทนสูง (Whole herd closure and herd roll-over)

วิธีการคัดทิ้งบางส่วน (Partial depopulation)

หลักการของการคัดทิ้งบางส่วน คือการคัดทิ้งสุกรช่วงอายุที่ป่วยหรือชุดที่ป่วยออกจากฝูงเพื่อลดปริมาณเชื้อไวรัสที่วนเวียนในฝูงสุกร โดยมากใช้แก้ปัญหาในกรณีที่มีการติดเชื้อพีอาร์อาร์เอสแบบเรื้อรัง ตัวอย่างเช่น ฟาร์มรูปแบบ Stable/ active ที่มีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสช่วงอนุบาล สามารถแก้ไขปัญหาเพื่อให้ฟาร์มอยู่ในสภาวะ Stable/ inactive ได้โดยการคัดทิ้งสุกรในช่วงอนุบาลทั้งหมด

วิธีการคัดทิ้งทั้งฟาร์ม นำเข้าหมูใหม่ที่ไม่มีเชื้อ (Total depopulation and repopulation with PRRSV negative pigs)

วีธีการนี้มีหลักการคล้ายกับวิธีการคัดทิ้งบางส่วน แต่ข้อแตกต่างคือ วิธีการนี้จะคัดทิ้งสุกรที่อยู่ในฝูงทั้งหมด โดยมากมักใช้แก้ไขปัญหาการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเรื้อรังในฟาร์มสุกรแม่พันธุ์ และฟาร์มที่อยู่ในสภาวะ Unstable เมื่อคัดทิ้งสุกรทั้งหมดออกจากฟาร์ม ล้างและพักฟาร์มโดยที่ไม่มีสุกรใดอยู่ในฟาร์มเลยนานประมาณ 1 – 3 เดือน หลังจากนั้นจึงมีการนำเข้าสุกรสาวทดแทนที่ปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เมื่อทำมาตรการดังนี้ ฟาร์มสุกรจึงอยู่ในลักษณะปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอส

วิธีการตรวจสอบและคัดทิ้ง (Test and Removal)

หลักของวิธีนี้คือ การตรวจสุกรที่ได้รับเชื้อพีอาร์อาร์เอสในฝูงสุกรและสามารถปล่อยเชื้อสู่สุกรตัวอื่นในฝูงสุกร โดยวิธีการตรวจสอบทางห้องปฏิบัติการ ที่ประกอบด้วยวิธีปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เลสและ ELISA เมื่อตรวจเจอสุกรที่ติดเชื้อ จึงทำการคัดทิ้งออกจากฝูง

วิธีการปิดฝูงและการทดแทนสูง (Whole herd closure and herd roll-over)

หลักการของวิธีการนี้ประกอบด้วย ถ้าฝูงสุกรไม่มีการเติมสุกรสาวทดแทนเข้าไปในฝูง หรือไม่มีการเติมเชื้อไวรัสเข้าไปในฟาร์ม ประมาณ 6 เดือน เชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสจะหายออกจากฝูงไปเอง

หลังจากหยุดทดแทนสุกรครบ 6 เดือนจึงทำการเติมสุกรสาวทดแทนเข้าในฝูงสุกรและใช้อัตราการทดแทนประมาณ 60 เปอร์เซนต์

เมื่อพิจารณาจากผลที่ได้รับแล้วพบว่า วิธีการ Total depopulation and repopulation with PRRSV negative pigs ได้ผลดีที่สุด สามารถปรับฝูงสุกรแม่พันธุ์เป็นฝูงสุกรปลอดเชื้อได้เร็วที่สุด แต่อย่างไรก็ตาม วิธีการนี้ยังพบข้อ เสียและข้อจำกัดต่างๆ ดังต่อไปนี้

- การลงทุนสูง เนื่องจากต้องคัดทิ้งแม่สุกรที่มีอยู่ในฝูงทั้งหมดและต้องนำเข้าแม่สาวใหม่
- ค่าเสียเวลาในการผลิต เนื่องจากฟาร์มจะมีช่วงเวลาที่พักฟาร์มและไม่มีผลผลิต
- การปรับเปลี่ยนสายพันธุกรรมของฟาร์ม
- สุกรสาวทดแทนที่ปลอดเชื้อมีไม่เพียงพอ

เนื่องจากข้อจำกัดที่กล่าวข้างต้น การกำจัดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสออกจากฝูงสุกรจึงเป็นเรื่องยากในหลายพื้นที่การผลิต ดังนั้นจึงได้มีรูปแบบการจัดการฝูงสุกรแม่พันธุ์เพื่อควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอส กล่าวคือฝูงสุกรยังมีการติดเชื้อแต่สามารถควบคุมได้ และส่งผลกระทบต่อผลผลิตบ้าง

ปัจจุบันการควบคุมและป้องโรค มี 2 วิธีการหลักๆ คือ การควบคุมโดยการใช้วัคซีนป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอส และการควบคุมโดยใช้ระบบการจัดการสุกรสาวทดแทนและการไหลสุกร (PigFlow) วิธีการอย่างหลังนี้เป็นวิธีการที่ไม่เน้นการใช้วัคซีนพีอาร์อาร์เอสในการป้องกันโรค

การทำวัคซีนพบว่ามีความสามารถป้องกันเพียงบางส่วนต่อการรับเชื้อไวรัสที่มีสายพันธุ์ที่แตกต่างจากไวรัสของวัคซีน (Mengeling et al., 2003b) และการกลับมาทำให้เกิดโรคของไวรัสของวัคซีน (Botner et al., 1997; Madsen et al., 1998; Nielsen et al., 2001)

การทำวัคซีนเพื่อลดอาการของโรคเนื่องจากวัคซีนไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อได้ซึ่งมีทั้งวัคซีนชนิดเชื้อเป็นและชนิดเชื้อตาย

สำหรับการควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอสในประเทศไทยนั้นนิยมการจัดการกับฝูงสุกรที่เหมาะสมเพื่อลดกลุ่มประชากรที่ไวรับ (Subpopulations) ต่อพีอาร์อาร์เอส และจะช่วยลดการแพร่โรคในฝูงแม่สุกรพันธุ์ในอนาคตได้ เพราะสุกรสาวทดแทนที่ปลอดโรคมีความไวรับต่อการติดเชื้อและสามารถเพิ่มปริมาณไวรัสภายในฟาร์ม นอกจากนี้ถ้ามีการทดแทนสุกรสาวจากแหล่งอื่นก็อาจนำเชื้อพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ใหม่เข้าสู่ฟาร์มได้ การกระตุ้นสร้างภูมิคุ้มต่อโรคพีอาร์อาร์เอสในสุกรสาวทดแทนก่อนเข้าฟาร์มนั้น ในประเทศไทยมีการทำหลายวิธีเช่น การทำวัคซีนชนิดเชื้อเป็น การปรับสภาพสุกรสาวทดแทน (Acclimatization) ด้วยสุกรภายในฟาร์มที่เป็นโรคและอยู่ในช่วงกำลังขับเชื้อพีอาร์อาร์เอส เป็นต้น แต่ปัญหาที่พบในภาคสนามคือ สุกรสาวที่นำเข้าทดแทนส่วนใหญ่เคยสัมผัสเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสมาก่อน เมื่อนำมากระตุ้นให้สร้างภูมิคุ้มก่อนนำเข้าฝูงโดยวิธีฉีดวัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นแล้วกลับไม่ตอบสนองต่อการฉีดวัคซีน แต่เมื่อเทียบกับการกระตุ้นให้สร้างภูมิคุ้มโดยวิธีให้สัมผัสกับเชื้อโดยทางอื่น เช่น acclimatization พบว่าสุกรสาวมีการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันต่อเชื้อพีอาร์อาร์เอสเหล่านั้น

ทำให้ทางผู้วิจัยมีความคิดที่จะศึกษาเปรียบเทียบการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันของสุกรที่เคยได้รับเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสมาก่อน ว่าเมื่อได้รับวัคซีนชนิดเชื้อเป็นเปรียบเทียบกับการได้รับเชื้อโดยธรรมชาติ จะมีการสร้างภูมิคุ้มกันแตกต่างกันหรือไม่ เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาและเลือกวิธีการกระตุ้นสร้างภูมิคุ้มที่ดีที่เหมาะสมในการป้องกันโรคพีอาร์อาร์เอสเพื่อให้ได้ประสิทธิผลมากที่สุด

การควบคุมพีอาร์อาร์เอสทำได้โดยทั้งนี้ได้มีการศึกษาต่างๆออกมามากมายไม่ว่าจะเป็นวิธีกระตุ้นภูมิคุ้มให้กับแม่สุกรสาว โดยการคลุกแม่สุกรก่อนนำเข้าฝูงเพื่อให้ได้รับเชื้อไวรัสสายพันธุ์ใกล้เคียงกับที่มีในฟาร์ม การคัดทิ้งสุกรที่ติดเชื้อออก การเลี้ยงแบบเข้าหมด-ออกหมด (all-in/all-out; AIAO) (Torremorell et al., 2000; Torremorell et al., 2002) ซึ่งสามารถควบคุมเชื้อเกี่ยวกับระบบทางเดินหายใจอื่นๆได้อีกด้วย

ส่วนการไม่ใช้วัคซีนจะใช้วิธีการจัดการแก้ปัญหามีทั้งวิธีการปรับสภาพสุกรสาวก่อนเข้าฝูง (gilt acclimatization) โดยทำให้สุกรสาวรับเชื้อภายในฝูงจากสุกรที่มีการขับเชื้อ เช่น ลูกสุกรหรือแม่สุกรรอการคัดทิ้ง หรือวิธีการคัดทิ้งสุกรที่มีปัญหาบางส่วน (partial depopulation)เพื่อลดการแพร่เชื้อ และการใช้วิธีการเข้าหมดออกหมดในการเคลื่อนย้ายสุกรเป็นชุด (all-in all-out pig flow) เพื่อหลีกเลี่ยงการรับเชื้อจากสุกรคนละชุด โดยที่จะต้องทำให้ฝูงสุกรอยู่สถานะ stable/inactive farm

ระบบการผลิตสุกร (Swine production system)

ในระบบการผลิตสุกร แบ่งสุกรตามการผลิตสายพันธุกรรมออกเป็น 3 รูปแบบคือ

- ฟาร์มผลิตปู่ย่าพันธุ์ (Great grandparent stock, GGP)

  ฟาร์มผลิตปู่ย่าพันธุ์ (Great grandparent stock, GGP) เป็นฟาร์มที่ผลิตพ่อแม่สุกรพันธุ์แท้เพื่อส่งเป็นสุกรพ่อแม่พันธุ์ทดแทนให้ฟาร์มผลิตพ่อแม่สุกรพันธุ์แท้ (GP)

- ฟาร์มผลิตพ่อแม่สุกรพันธุ์แท้ (Grandparent stock, GP)

  ฟาร์มผลิตพ่อแม่สุกรพันธุ์แท้ (Grandparent stock, GP) เป็นฟาร์มที่ผลิตแม่สุกรทดแทน 2 สายเพื่อส่งเป็นแม่สุกร 2 สายทดแทนให้ฟาร์มผลิตสุกรขุนขาย

- ฟาร์มผลิตสุกรขุนขาย (Parent stock, PS)

  ฟาร์มผลิตสุกรขุนขาย (Parent stock, PS) เป็นฟาร์มที่ผลิตลูกสุกรเพื่อขายออกสู่ตลาดเพื่อการบริโภค

ฟาร์มสุกรแต่ละฟาร์มจะประกอบด้วย 3 ขั้นตอนการผลิต (stages of production) คือหน่วยแม่พันธุ์ สุกรอนุบาลและสุกรขุน หน่วยแม่พันธุ์ประกอบด้วยโรงเรือนผสม – อุ้มท้อง และโรงเรือนคลอด – เลี้ยงลูก โดยมีสุกรหย่านม เป็นเป้าหมายหลักของการผลิต หน่วยการผลิตสุกรอนุบาล เป็นหน่วยการผลิตที่เลี้ยงสุกร ตั้งแต่หลังหย่านม (อายุ 21 – 28 วัน) จนถึงอายุประมาณ 10 สัปดาห์ และหน่วยการผลิตสุกร

ที่เป็นขั้นตอนการผลิตสุดท้ายของการผลิต หน้าที่ของหน่วยการผลิตนี้คือเลี้ยงสุกรที่ย้ายมาจากหน่วยการผลิตสุกรอนุบาล และเลี้ยงสุกรตั้งแต่อายุ 10 สัปดาห์ จนถึงขายที่อายุประมาร 24 สัปดาห์

ปัจจุบันการผลิตสุกรได้ก้าวหน้าไปมาก และได้มีการนำองค์ความรู้และเทคโนโลยี่ใหม่ๆเข้ามาประยุกต์ใช้ในฟาร์มสุกรเพื่อให้ฟาร์มสุกรมีผลผลิตที่ดีขึ้นและมีความปลอดโรคมากขึ้น โดยปัจจุบันสามารถแบ่งระบบการผลิตสุกรออกได้เป็น 3 แบบคือ

- ฟาร์มสุกรแบบ 1 จุดการผลิต (one-site production system)

  ฟาร์มรูปแบบนี้เป็นระบบการผลิตสุกรรูปแบบเก่าที่ หน่วยการผลิตต่างๆเช่น หน่วยแม่พันธุ์ สุกรอนุบาลและสุกรขุน อยู่ในพื้นที่เดียวกัน

- ฟาร์มสุกรแบบ 2 จุดการผลิต (two-site production system)

  ฟาร์มสุกรรูปแบบนี้เป็นฟาร์มที่ได้มีการพัฒนามาจากฟาร์มแบบ 1 จุดการผลิต แต่ข้อแตกต่างคือ มี 2 หน่วยการผลิตเท่านั้นที่อยู่ในพื้นที่เดียวกัน ฟาร์มสุกรแบบ 2 จุดการผลิตนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทคือ ฟาร์มที่หน่วยแม่พันธุ์และอนุบาลอยู่ในพื้นที่เดียวกัน แต่ย้ายหน่วยสุกรขุนออกไปเลี้ยงพื้นที่อื่น ส่วนอีกประเภทคือฟาร์มที่มีเฉพาะแม่พันธุ์ แต่ย้ายหน่วยอนุบาลและขุน ออกไปเลี้ยงพื้นที่อื่น

- ฟาร์มสุกรแบบ 3 จุดการผลิต (three-site production system)

  ฟาร์มสุกรรูปแบบนี้เป็นฟาร์มที่ได้มีการพัฒนาเพื่อการป้องกันโรคและผลิตสุกรที่มีสุขภาพดี โดยหน่วยการผลิตต่างๆ เช่น แม่พันธุ์ อนุบาลและขุน ตั้งอยู่คนละพื้นที่

บทที่ 2

ระเบียบวิธีวิจัย (Materials and Methods)

ฟาร์มสุกรแม่พันธุ์

ดำเนินงานวิจัยในฟาร์มสุกรระดับปู่ย่าพันธุ์ (Great Grand Parent, GGP) และแม่สุกรพันธุ์แท้ (Great Grand Parent, GP) ขนาดใหญ่ ที่มีจำนวนแม่สุกรประมาณ 1,200 แม่ ชื่อฟาร์มหนองกระทุ่ม ที่ตั้งอยู่ใน อ.ปากท่อ จ.ราชบุรี สุกรปู่ย่าพันธุ์และพันธุ์แท้ในฟาร์มประกอบด้วยสายพันธุ์ แลนด์เรซ (Landrace) และ ลาจไวท์ (Largewhite) เป็นสายพันธุ์ที่ใช้ผลิตแม่ และดูร็อก (Duroc) เป็นสายพันธุ์ที่ใช้ผลิตพ่อ สุกรปู่ย่าพันธุ์และพันธุ์แท้นำเข้าจากประเทศฟินแลนด์ นอร์เวย์ และเดนมาร์ค ฟาร์มที่ดำเนินงานวิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตพ่อดูร็อก (Duroc) พันธุ์แท้และแม่สุกรพันธุ์ 2 สาย (Parent Stock, PS) ทดแทนสู่ฟาร์มในเครือ ที่ประกอบด้วย

- ฟาร์มรางหวาย (ขนาด 15,000 แม่)
- ฟาร์มล่าง (ขนาด 2,000 แม่)
- ฟาร์มหนองโป่ง (สุกรแม่พันธุ์ GP ขนาด 5,000 แม่)
- ฟาร์มในเครือข่าย (ขนาด 10,000 – 15,000 แม่)

ฟาร์มหนองกระทุ่ม เป็นฟาร์มที่มีการเลี้ยงแบบระบบหนึ่งจุดการผลิต (One-site production system) โดยเลี้ยงสุกรแม่พันธุ์ สุกรอนุบาล และสุกรขุน อยู่ในบริเวณรั้วเดียวกัน (ภาพที่ 1) ฟาร์มหนองกระทุ่มนี้เป็นฟาร์มสุกรที่เคยผ่านการระบาดของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสอย่างรุนแรงเมื่อประมาณปี พ.ศ. 2547 - 2548 และผ่านการใช้วัคซีนพีอาร์อาร์เอสชนิดเชื้อเป็นมาก่อนหน้านี้ ก่อนดำเนินงานวิจัยฟาร์มหนองกระทุ่มยังคงมีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ดังแสดงจากค่าผลเลือดที่เป็นบวกต่อไวรัสพีอาร์อาร์เอส แต่อาการของโรคไม่รุนแรง

โครงสร้างฟาร์มหนองกระทุ่ม ประกอบด้วยส่วนการผลิตดังต่อไปนี้ (ภาพที่ 1)

- โรงเรือนเก็บแม่สาวทดแทน (Gilt developing unit, GDU) จำนวน 4 หลัง (โรงเรือนแบบเปิด จำนวน 2 หลัง และโรงเรือนที่มีการระบายอากาศแบบ Evaporative cooling system จำนวน 2 หลัง)
- โรงเรือนอุ้มท้องจำนวน 2 หลัง (1 หลังมีเล้าคลอดประมาณครึ่งโรงเรือน)
- โรงเรือนคลอดจำนวน 3 หลัง
- โรงเรือนอนุบาลจำนวน 2 หลัง

การดำเนินงานวิจัย

แบ่งการดำเนินงานวิจัยออกเป็น 3 ช่วงคือ

1. ช่วงที่หนึ่ง การศึกษาปัจจัยต่างๆที่ช่วยให้สามารถผลิตลูกสุกรที่ปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสจากแม่สุกรที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส
2. ช่วงที่สอง การผลิตลูกสุกรที่ปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสจากฟาร์มที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส
3. ช่วงที่สาม ช่วงที่นำสุกรสาวปลอดเชื้อที่ผลิตได้จากช่วงที่สองเข้าทดแทนในฝูงสุกรที่มีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและทำให้ฟาร์มที่ติดเชื้อเป็นฟาร์มปลอดเชื้อ

ภาพที่ 1

แสดงภาพถ่ายทางอากาศแผนผังฟาร์มสุกรชื่อหนองกระทุ่มที่ใช้ดำเนินการวิจัย ฟาร์มประกอบด้วยโรงเรือนเก็บแม่สุกรสาวทดแทนจำนวน 2 โรงเรือนที่มีระบบระบายอากาศแบบ evaporative cooling system โรงเรือนอุ้มท้องสำหรับแม่สุกรสาวและคลอดสำหรับสุกรท้องแรก โรงเรือนอุ้มท้องสุกรนาง โรงเรือนคลอดสุกรนาง โรงเรือนอนุบาลแบบเปิด และโรงเรือนแม่สาวทดแทน

ช่วงที่ 1 ศึกษาปัจจัยที่ช่วยให้สามารถผลิตลูกสุกรที่ปลอดเชื้อ

การศึกษาในช่วงที่ 1 เป็นการศึกษาเพื่อหาปัจจัยต่าง ๆที่ทำให้แม่สุกรสามารถผลิตลูกสุกรที่ปลอดเชื้อได้ โดยโดยมีหลักการคือตรวจหาปริมาณแอนติบอดี้ของแม่ก่อนคลอดและลูกก่อนหย่านมโดยวิธี ELISA และปริมาณไวรัสพีอาร์อาร์เอสในกระแสเลือดของลูกก่อนหย่านมโดยวิธีปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เลส (Polymerase chain reaction, PCR) เป็นเวลา 6 เดือน และนำข้อมูลต่าง ๆเช่น ข้อมูลปริมาณแอนติบอดี้ในกระแสเลือดของแม่และลูกสุกรทุกตัวที่ได้จากการตรวจ ประวัติต่าง ๆของตัวแม่พันธุ์ เช่น สายพันธุกรรมและลำดับท้องของตัวแม่ มาหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linear regression analysis) เพื่อวิเคราะห์หาปัจจัยที่ทำให้สามารถผลิตลูกสุกรที่ปลอดเชื้อ

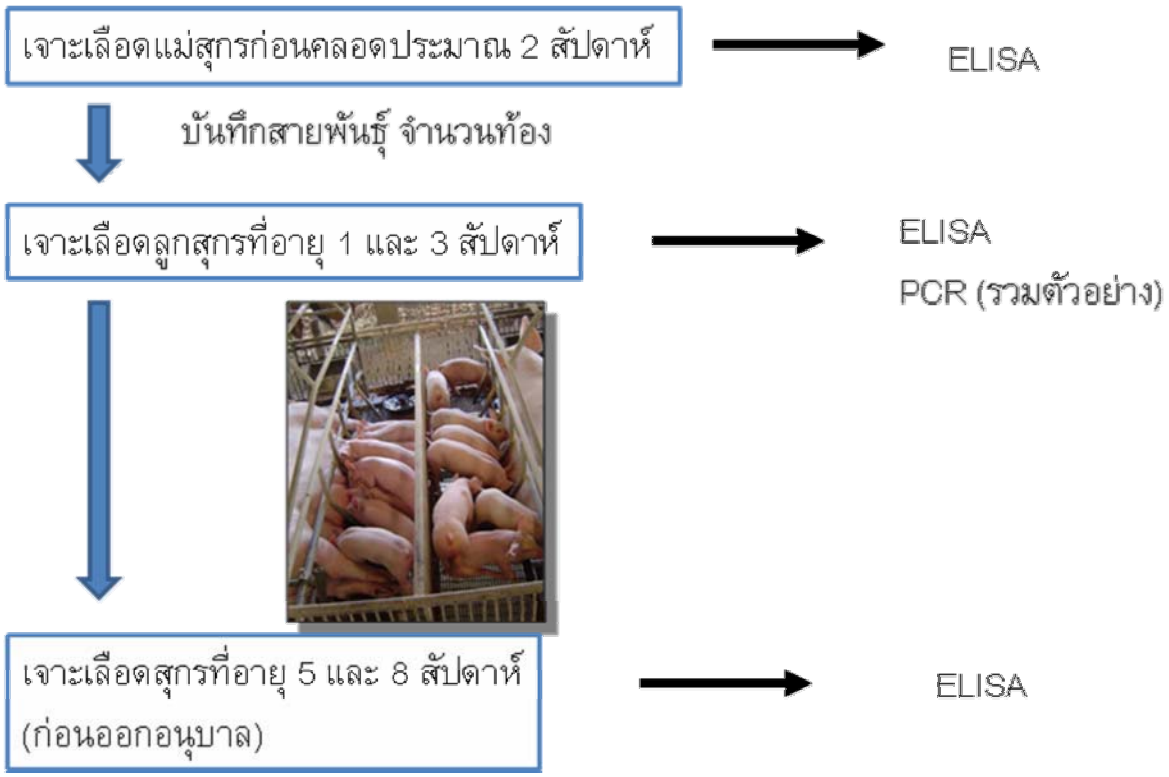
ก่อนเริ่มการศึกษา ได้นำเข้าสุกรสาวทดแทนเข้ามาเสริมให้เต็มจำนวนกรงที่สามารถรองรับแม่สุกรอุ้มท้องได้ และหยุดการทดแทนสุกรสาวประมาณ 2 เดือน (herd closure) และเริ่มดำเนินการวิจัยในช่วงที่หนึ่งเมื่อครบกำหนดการหยุดทดแทนสุกรสาว (herd closure) ประมาณ 2 เดือน โดยเจาะเลือดแม่สุกรพันธุ์แท้ สายแลนด์เรซ (Landrace) ลาจไวท์ (Largewhite) และดูร็อก (Duroc) ทุกลำดับท้อง ตั้งแต่ลำดับท้องที่ 1 – 6 จำนวน 100 ตัว ที่อายุตั้งท้อง 12 และ 14 สัปดาห์ และเจาะเลือดลูกสุกรทุกตัวที่คลอดจากแม่เหล่านี้เมื่ออายุประมาณ 1 และ 3 สัปดาห์ (ภาพที่ 2)

นำเลือดแม่สุกรที่เจาะได้ มาแยกซีรั่มและส่งห้องปฏิบัติการเพื่อนำมาตรวจหาปริมาณแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี ELISA (Idexx ELISA, USA) และนำเลือดลูกสุกรมาแยกซีรั่มและส่งห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจหาปริมาณแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี ELISA (Idexx ELISA, USA) และตรวจเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี PCR โดยการตรวจด้วยวิธี PCR 1 ตัวอย่างนี้ จะรวมตัวอย่างเลือดจากลูกสุกรจำนวน 5 ตัว (pooled sample)

คัดลูกสุกรหย่านมเพื่อลงเลี้ยงในโรงเรือนอนุบาลเมื่ออายุ 21 – 24 วัน และเจาะเลือดที่อายุ 5 และ 8 สัปดาห์ นำเลือดลูกสุกรมาแยกซีรั่มและส่งห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจหาปริมาณแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี ELISA (Idexx ELISA, USA) และตรวจเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี PCR โดยการตรวจด้วยวิธี PCR 1 ตัวอย่างนี้ จะรวมตัวอย่างเลือดจากลูกสุกรจำนวน 5 ตัว (pooled sample)

นำข้อมูลระดับแอนติบอดี้ของแม่และลูกสุกร และเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในลูกสุกร และข้อมูลสายพันธุกรรมและลำดับท้องของแม่สุกร มาหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (Linear regression analysis)

นอกจากนั้น ผู้วิจัยยังได้ติดตามการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในฟาร์ม



ภาพที่ 2

แสดงขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยช่วงที่ 1 โดยที่เจาะเลือดแม่สุกรอายุตั้งท้อง 12 และ 14 สัปดาห์ (2 สัปดาห์ก่อนคลอด) และเจาะเลือดลูกสุกรทุกตัวที่คลอดจากแม่เหล่านี้เมื่ออายุประมาณ 1 และ 3 สัปดาห์ เจาะเลือดที่ลูกที่คัดพันธุ์ที่อายุ 5 และ 8 สัปดาห์ นำเลือดลูกสุกรมาแยกซีรั่มและส่งห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจหาปริมาณแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี ELISA (Idexx ELISA, USA) และตรวจเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี PCR

ช่วงที่สอง การผลิตลูกสุกรที่ปลอดเชื้อ

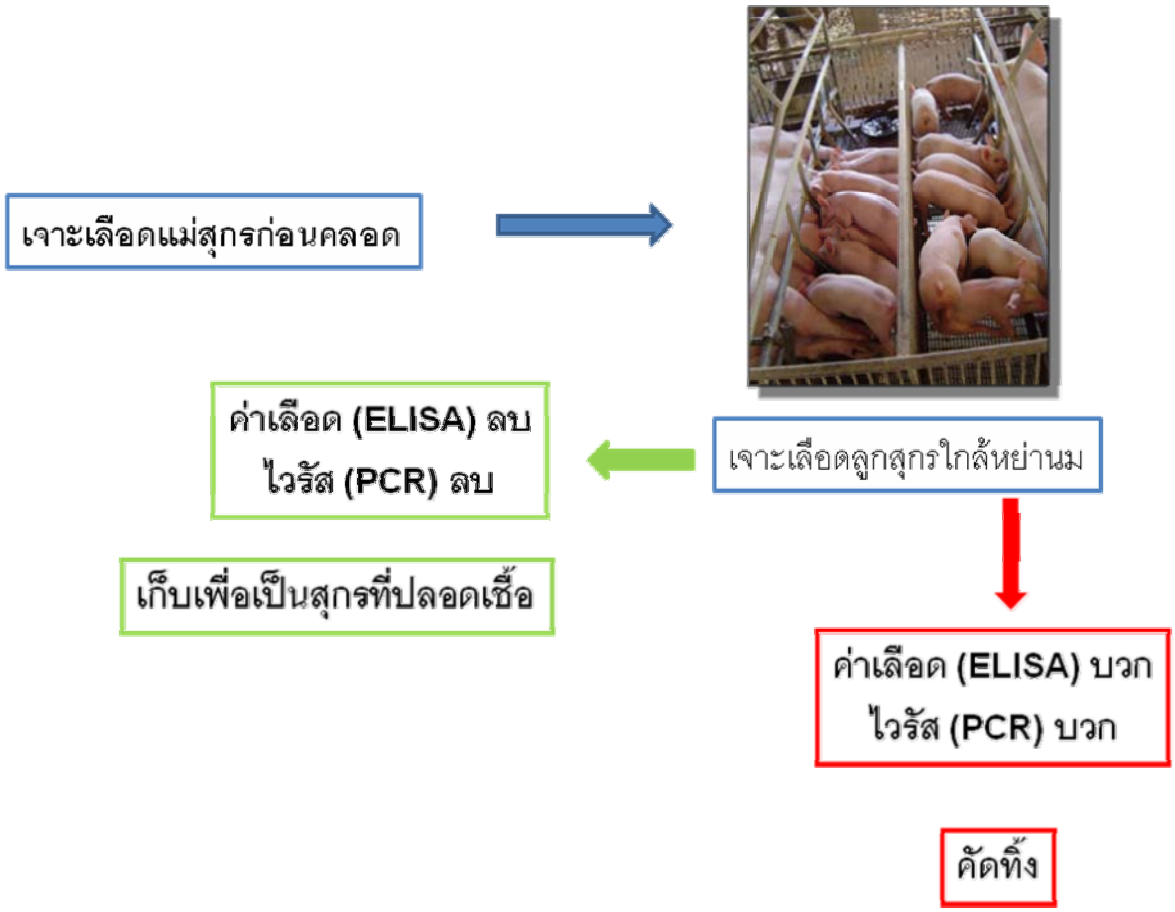
ก่อนเริ่มการศึกษา ได้มีการย้ายพื้นที่การเลี้ยงสุกรอนุบาลและขุนทั้งหมดออกไปเลี้ยงบริเวณอื่นที่ห่างจากฟาร์มไปประมาณ 15 กิโลเมตร (nursery depopulation) และได้นำเข้าสุกรสาวทดแทนเข้ามาเสริมให้เต็มจำนวนกรงที่สามารถรองรับแม่สุกรอุ้มท้องได้ และหยุดการทดแทนสุกรสาวประมาณ 2 เดือน (herd closure)

เมื่อครบกำหนดหยุดการทดแทนสุกรสาวได้ 2 เดือน โดยเริ่มดำเนินการวิจัยโดยเจาะเลือดแม่สุกรพันธุ์แท้ สายแลนด์เรซ (Landrace) ลาจไวท์ (Largewhite) และดูร็อก (Duroc) ทุกลำดับท้องตั้งแต่ลำดับท้องที่ 1 – 6 ที่ประมาณ 2 สัปดาห์ก่อนคลอด (อายุอุ้มท้องประมาณ 14 สัปดาห์) และเจาะเลือดลูกสุกรทุกตัวที่คลอดจากแม่เหล่านี้เมื่ออายุประมาณ 3 สัปดาห์ (หรือก่อนหย่านมประมาณ 3 วัน)

นำเลือดแม่สุกรที่เจาะได้ มาแยกซีรั่มและส่งห้องปฏิบัติการเพื่อนำมาตรวจหาปริมาณแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี ELISA (Idexx ELISA, USA) ส่วนเลือดลูกสุกร นำมาแยกซีรั่มและส่งห้องปฏิบัติการเพื่อตรวจหาปริมาณแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี ELISA (Idexx ELISA, USA) และตรวจเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี PCR จากตัวอย่างเลือดลูกที่อายุ 3 สัปดาห์ โดยการตรวจด้วยวิธี PCR 1ตัวอย่างนี้ จะรวมตัวอย่างเลือดจากลูกสุกรจำนวน 5 ตัว

ถ้าลูกสุกรมีปริมาณแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี ELISA เป็นบวกและการตรวจเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี PCR มีผลเป็นบวกจะทำการคัดทิ้งออกจากฟาร์ม โดยแยกออกไปเลี้ยงที่อื่น (weaning off-site) และไม่นำไปเลี้ยงต่อในอนุบาลภายในฟาร์ม (ภาพที่ 3) แต่ถ้าลูกสุกรมีปริมาณแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี ELISA เป็นลบและการตรวจเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี PCR มีผลเป็นลบจะนำไปเลี้ยงต่อในอนุบาลของฟาร์มและแยกเลี้ยงเป็นรายคอกๆ ละประมาณ 3 – 5 ตัว ส่วนลูกสุกรที่มีปริมาณแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี ELISA เป็นบวกแต่การตรวจเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี PCR มีผลเป็นลบ จะนำลูกสุกรเหล่านี้เลี้ยงไว้ในฟาร์ม แต่แยกเลี้ยงไว้ต่างหาก ห่างจากโรงเรือนอนุบาลที่เลี้ยงลูกสุกรที่มีผลแอนติบอดี้และ PCR เป็นลบ

คัดลูกสุกรหย่านมเพื่อลงเลี้ยงในโรงเรือนอนุบาลเมื่ออายุ 21 – 24 วัน และเจาะเลือดลูกสุกรทุกตัวที่เลี้ยงต่อในอนุบาลของฟาร์มทุกๆ 1 เดือนจนกว่าอายุประมาณ 20 สัปดาห์ เพื่อตรวจหาปริมาณแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี ELISA (Idexx ELISA, USA) และตรวจซ้ำอีกครั้งเมื่ออายุประมาณ 28 สัปดาห์ (ก่อนส่งเข้าฝูงแม่พันธุ์ เพื่อเป็นสุกรสาวทดแทน) ถ้าสุกรมีปริมาณแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี ELISA เป็นบวกในระหว่างที่เลี้ยงในอนุบาลของฟาร์ม ถึงอายุประมาณ 20 สัปดาห์ จะทำการคัดทิ้งทันที



ภาพที่ 3

แสดงขั้นตอนการดำเนินงานวิจัยช่วงที่ 2 โดยที่เจาะเลือดแม่สุกรอายุตั้งท้อง 14 สัปดาห์ (2 สัปดาห์ก่อนคลอด) และเจาะเลือดลูกสุกรทุกตัวที่คลอดจากแม่เหล่านี้เมื่ออายุประมาณ 1 และ 3 สัปดาห์ ถ้าลูกสุกรมีปริมาณแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี ELISA ที่อายุ3 สัปดาห์ เป็นบวกและการตรวจเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี PCR มีผลเป็นบวกจะทำการคัดทิ้งออกจากฟาร์ม โดยแยกออกไปเลี้ยงที่อื่น (weaning off-site) และไม่นำไปเลี้ยงต่อในอนุบาลภายในฟาร์ม

ช่วงที่สาม การนำสุกรปลอดเชื้อเข้าทดแทนในฝูงสุกรที่มีการติดเชื้อ

เมื่อพบว่าวิธีการดำเนินการวิจัยในขั้นตอนที่ 2 สามารถผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอสได้ จึงดำเนินการเจาะเลือดเพื่อผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อมาอย่างต่อเนื่อง และแยกเลี้ยงลูกสุกรปลอดเชื้อส่วนหนึ่งที่ได้จากการคัดเลือกในช่วงการดำเนินการวิจัยที่สอง ในโรงเรือนอนุบาลจนถึงอายุประมาณ 8 สัปดาห์ จากนั้นย้ายสุกรเหล่านี้ไปโรงเรือนสุกรสาวทดแทน (โรงเรือนเปิด) และเลี้ยงต่อจนถึงอายุประมาณ 28 สัปดาห์ ทำการคัดพันธุ์ (คัดพันธุ์ครั้งที่ 1 และ 2 ที่อายุ 10 และ 18 สัปดาห์ตามลำดับ) และย้ายสุกรปลอดเชื้อเหล่านี้หลังผ่านการคัดเลือกพันธุ์ แล้วไปยังโรงเรือนสุกรสาวทดแทนที่มีระบบระบายอากาศแบบ Evaporative cooling system

ตรวจสอบสภาวะการปล่อยเชื้อ (virus shedding) ของฝูงพันธุ์ที่ติดเชื้อก่อนนำเข้าสุกรสาวทดแทนปลอดเชื้อ โดยใช้สุกรสาวปลอดเชื้อเป็น sentinel ถ้าสุกร sentinel ยังคงสภาพปลอดเชื้อเมื่อผ่านการตรวสอบไปแล้ว 2 ชุดจึงทำการทดแทนฝูงแม่พันธุ์ติดเชื้อด้วยแม่สุกรสาวปลอดเชื้อ

นำส่งสุกรสาวทดแทนปลอดเชื้อ เมื่ออายุครบ 32 สัปดาห์ เข้าฟาร์มเดิมที่ยังไม่ปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอส เพื่อเป็นสุกรสาวทดแทนในการที่จะทำให้ฟาร์มปลอดจากเชื้อพีอาร์อาร์เอส โดยมีรูปแบบการนำเข้าและทดแทนเป็นไปตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

ขั้นตอนที่ 1 คัดทิ้งแม่นางท้องแก่ที่อยู่ในฝูง

คัดทิ้งแม่นางท้องแก่ (ลำดับท้องที่มากกว่า 7) เพื่อให้โรงเรือนอุ้มท้องว่างทั้งหลังอย่างน้อย 1 หลัง เน้นให้โรงเรือนอุ้มท้องที่มีซองคลอดอยู่ว่าง

ขั้นตอนที่ 2 พักโรงเรือนประมาณ 1 เดือน

เมื่อทำการคัดทิ้งแม่นางท้องแก่และทำให้โรงเรือนว่างทั้งหลังแล้ว ให้ทำการล้างโรงเรือน พ่นยาฆ่าเชื้อและปล่อยโรงเรือนว่างโดยไม่มีแม่สุกรเลย ประมาณ 1 เดือน และพ่นยาฆ่าเชื้อทุกวันระหว่างที่ไม่มีสุกร

ขั้นตอนที่ 3 ตรวจสอบการปล่อยเชื้อไวรัสของแม่นางที่อยู่ในฝูง

นำแม่สุกรสาวทดแทนที่ปลอดเชื้อประมาณ 2 ตัว (Sentinel) ไปขังในกรงตับ แทรกกับแม่นางเดิมในฝูงและเจาะตรวจเลือดวันแรกและอีกครั้งประมาณ 15 และ 30 วันถัดมา เพื่อหาปริมาณแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี ELISA หลังจากครบ 30 วันจึงทำซ้ำแบบเดียวกันโดยใช้แม่สุกรสาวทดแทนปลอดเชื้อใหม่อีก 2 ตัว

ถ้าตรวจสอบและไม่พบว่าแม่สาวปลอดเชื้อทั้ง 2 ชุด มีระดับแอนติบอดี้เป็นบวก (seroconversion) จึงเริ่มดำเนินการต่อในขั้นตอนต่อไป

ขั้นตอนที่ 4 นำสุกรสาวทดแทนไปเลี้ยงในโรงเรือนที่พักไว้

นำแม่สุกรสาวทดแทนที่อายุพร้อมที่จะผสม (อายุ 32 – 34 สัปดาห์) มายืนบนกรงตับที่เตรียมพร้อมไว้ เพื่อให้เป็นยูนิตที่เลี้ยงเฉพาะสุกรสาวทดแทนก่อนผสม ยืนอุ้มท้องและคลอด ในโรงเรือนนี้ เมื่อคลอดเสร็จเป็นแม่ที่มีลำดับท้องที่ 1 จึงย้ายไปอีกโรงเรือน (ระบบ parity segregration system)

ขั้นตอนที่ 5 ทยอยคัดทิ้งแม่นางที่อยู่ในฝูงและทดแทนด้วยแม่ปลอดเชื้อ

เมื่อพบว่าแม่เดิมที่อยู่ในฝูงไม่อยู่ในสภาวะที่สามารถปล่อยเชื้อสู่แม่ที่ปลอดเชื้อได้ จึงนำแม่ทดแทนปลอดเชื้อเข้าสู่ฝูงแม่พันธุ์ และทยอยคัดทิ้งแม่นางเดิมที่อยู่ในฝูง โดยใช้อัตราการคัดทิ้งที่ 60 เปอร์เซนต์ ใช้เวลานานประมาณ 1 ปีครึ่งแม่สุกรเดิมจึงถูกเปลี่ยน และทดแทนด้วยแม่สุกรปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอส

การวิเคราะห์และประเมินผล

นำสมการเส้นตรงเชิงถดถอย (linear regression analysis) มาใช้ในการวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ของค่าตัวแปรต่างๆในการศึกษาช่วงที่หนึ่งเพื่อที่จะหาปัจจัยที่สามารถผลิตสุกรปลอดเชื้อ ประเมินผลความสำเร็จของช่วงที่สองผ่านสภาวะการติดเชื้อของสุกรสาวทดแทน โดยก่อนที่จะส่งเข้าฟาร์มแม่พันธุ์ สุกรสาวทดแทนที่มีอายุประมาณ 28 สัปดาห์จะต้องปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยไม่มีแอนติบอดี้ต่อเชื้อ และประเมินผลความสำเร็จของช่วงที่สามผ่านสภาวะการติดเชื้อของสุกรแม่พันธุ์ทั้งหมดที่อยู่ในฝูง โดยใช้บรรทัดฐานเดียวกันกับการประเมินผลความสำเร็จของช่วงที่สอง โดยฝูงแม่พันธุ์จะต้องปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยไม่มีแอนติบอดี้ต่อเชื้อ

Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)

วัดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันประเภทสารน้ำหรือปริมาณแอนติบอดี้ของสุกรจากซีรั่ม โดยการตรวจใช้ชุดตรวจสอบสำเร็จรูป (Herdchek®, idexx, USA) โดยนำซีรั่มที่ได้จากการเจาะเลือด ปล่อยให้เลือดเกิดกระบวนการแข็งตัวแยกเป็นซีรั่มออกมา แล้วนำตัวอย่างมาเจือจางโดยใช้ซีรั่ม 5 ไมโครลิตร ต่อ น้ำยาละลาย 195 ไมโครลิตร นำมาใส่ลงใน plate หลังจากนั้นทำการดูดซีรั่มมาใส่ใน strip coated plate หลุมละ 100 ไมโครลิตร ซึ่งในการทำแต่ละครั้งจะต้องมีตัวควบคุมบวก และตัวควบคุมลบ อย่างละ 2 หลุมใน strip หลุมละ 100 ไมโครลิตรต่อหนึ่ง plate ทำการ incubate ไว้เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นจะทำการล้าง strip ด้วย washing solution 3 ครั้ง ครั้งละ 300 ไมโครลิตร แล้วเติม substrate (TMB substrate) หลุมละ 100 ไมโครลิตร incubate ไว้ 15 นาทีจึงใส่ stop solution หลุมละ 100 ไมโครลิตร

หลังจากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง (OD) ด้วยเครื่อง ELISA reader ที่ความยาวคลื่นแสง 650 นาโนเมตรและทำการแปลผล

ปริมาณระดับแอนติบอดี้ของสุกรจากซีรั่มที่ได้จากการตรวจสอบ จะแสดงเป็นค่า S/P ratio โดยมีค่า cut-off ที่ 0.4 สุกรที่มีค่า S/P ratio มากกว่าหรือเท่ากับ 0.4 จะพิจารณาว่าเป็นสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส สุกรที่มีค่า S/P ratio น้อยกว่า 0.4 จะพิจารณาว่าเป็นสุกรที่ไม่มีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

การตรวจหาไวรัสโดยวิธีปฏิกริยาลูกโซ่โพลีเมอร์เลส (Polymerase chain reaction, PCR)

นำตัวอย่างเลือดมาแยกซีรั่ม ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) โดยใช้ความเร็ว 1,200 g เป็นระยะเวลา 10 นาที จากนั้นทำการแยกซีรั่มออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกจำนวน 150 ไมโครลิตร สำหรับการสกัดอาร์เอ็นเอ ส่วนที่เหลือทำการเก็บในตู้แช่ -80°C

นำตัวอย่างซีรั่มมาสกัดแยก RNA ตามวิธีที่บรรยายในคู่มือที่ให้มาในชุดทำการสกัดอาร์เอ็นเอ โดยใช้ชุดสกัด Nucleospin® RNA virus (Macherey-Nagel, Germany) โดยนำซีรั่มจำนวน 150 ไมโครลิตร

นำ RNA ที่สกัดได้มาตรวจหา RNA ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสด้วยวิธี reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) ต่อไปดังนี้ เปลี่ยน RNA ให้เป็น cDNA โดยใช้สารดังต่อไปนี้

- 10x RT buffer (500 mM Tris-HCl, 750 mM KCl, 30 mM $MgCl_2$, 100 mM DTT) จำนวน 4 ไมโครลิตร
- M-MuLV reverse transcriptase (25unit/ไมโครลิตร) จำนวน 2 ไมโครลิตร
- RNase inhibitor (10unit/ไมโครลิตร) จำนวน 1 ไมโครลิตร
- Random primer (15 uM) จำนวน 2 ไมโครลิตร
- dNTP (2.5 mM) จำนวน 4 ไมโครลิตร
- Total viral RNA ที่สกัดได้จำนวน 20 ไมโครลิตร

นำสารทั้งหมดรวม 40 ไมโครลิตร ใส่เครื่อง PCR ตั้งโปรแกรม 42 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมงและ 95 องศาเซลเซียส 5 นาที เมื่อครบเวลาได้ cDNA และเก็บ cDNA ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ในการตรวจหาเชื้อต่อไป

นำ cDNA ที่ได้ มาทำปฏิกริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส (Multiplex Polymerase chain reaction, PCR) ที่มีความจำเพาะต่อยีนส่วน ORF 1 ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส เพื่อตรวจยืนยันการมีเชื้อ และสามารถตรวจไวรัสพีอาร์อาร์เอส ได้ทั้ง 2 สายพันธุ์พร้อมกัน โดยเตรียม master mix (Promega, USA) ดังนี้

- Master mix จำนวน 12.5 ไมโครลิตร
- RNase free water จำนวน 9.5 ไมโครลิตร
- ชุด primer ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์ยุโรป (ความเข้มข้น 50 pmol/ul) (GTATGAACTTGCAGGATG จำนวน 0.5 ไมโครลิตร และ GCCGACAATACCATGTGCTG จำนวน 0.5 ไมโครลิตร
- ชุด primer ของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสายพันธุ์อเมริกาเหนือ (ความเข้มข้น 50 pmol/ul) (North American genotype GGCGCAGTGACTAAGAGA จำนวน 0.5 ไมโครลิตร และ GTAACTGAACACCATATGCTG จำนวน 0.5 ไมโครลิตร
- cDNA 1 ไมโครลิตร

นำสารทั้งหมดรวม 25 ไมโครลิตร เข้าเครื่อง PCR และตั้งโปรแกรมดังนี้ Initial denature 95 องศาเซลเซียส 2 นาที 1 รอบ denaturation 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที Annealing 48 องศาเซลเซียส 30 วินาที Extension 72 องศาเซลเซียส 30 วินาทีรวม 35 รอบ และ final extension 72 องศาเซลเซียส 10 นาที โดยสายพันธุ์ยุโรปมีขนาดผลผลิตจากปฏิกริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส 186 เบส ส่วนสายพันธุ์อเมริกาเหนือจะมีขนาดผลผลิตจากปฏิกริยาลูกโซ่โพลิเมอเรส 107 เบส

บทที่ 3

ผลการวิจัย สรุป ข้อเสนอแนะ และ ปัญหาที่พบ

ผลการดำเนินการวิจัยช่วงที่ 1 การศึกษาปัจจัยที่ช่วยให้สามารถผลิตลูกสุกรที่ปลอดเชื้อ

เมื่อนำผลระดับแอนติบอดี้ในเลือดแม่สุกรเมื่อโดยวิธี ELISA (Idexx ELISA, USA) ผลระดับแอนติบอดี้ในเลือดลูกสุกรโดยวิธี ELISA (Idexx ELISA, USA) และเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี PCR ข้อมูล ข้อมูลของแม่สุกรเช่น ลำดับท้อง และสายพันธุ์ มาหาความสัมพันธ์ทางสถิติ พบว่าการผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อจากฝูงแม่สุกรที่ติดเชื้อ ไม่สัมพันธ์กับลำดับท้องของแม่สุกร ระดับแอนติบอดี้ของแม่และลูกสุกร แต่จะสัมพันธ์กับการตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในลูกสุกร และสายพันธุ์แม่สุกร โดยสรุปเป็นหัวข้อดังต่อไปนี้

- ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสุกรปลอดเชื้อ
    - การตรวจพบเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสในลูกสุกร (Infection statuses of piglets)
        - ปัจจัยสำคัญที่ทำให้พบการติดเชื้อในลูกสุกรไม่ได้มาจากการติดเชื้อจากแม่หรือจากสิ่งแวดล้อม (lateral infection) แต่น่าจะเกิดจากการติดเชื้อผ่านทางรก (transplacental infection) (ไม่มีผลข้อมูลทางสถิติ เนื่องจากวิธี herd closure เป็นวิธีที่ช่วยลดการติดเชื้อผ่านทางรก)
    - พันธุกรรม: สายพันธุ์ที่ผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสได้ง่าย
        - พบว่าแม่สุกรสายพันธุ์ดูร็อก (Duroc) ผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อได้ง่ายกว่าแม่สุกรสายพันธุ์ลาจไวท์ (Large white)
        - แม่สุกรสายพันธุ์ลาจไวท์ (Large white) ผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อได้ง่ายกว่าแม่สุกรสายพันธุ์แลนด์เรซ (Landrace)
    - การจัดการรูปแบบใหม่เช่น isolated weaning
        - การแยกเลี้ยงลูกสุกรปลอดเชื้อจากลูกสุกรที่ติดเชื้อเป็นปัจจัยหนึ่งที่ช่วยให้ผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อได้ง่ายขึ้น เนื่องจากลดปัจจัยการติดเชื้อผ่านทางสิ่งแวดล้อมเช่นจากลูกสุกรที่ติดเชื้อ (ไม่มีผลข้อมูลทางสถิติ เนื่องจากวิธี wean off-site เป็นการลดการสัมผัสเชื้อ)

- ปัจจัยที่ไม่เกี่ยวข้องกับการผลิตสุกรปลอดเชื้อ
    - ระดับแอนติบอดี้ในกระแสเลือดของแม่สุกรก่อนคลอด

- ลำดับท้องของแม่สุกร
    - ผลจากการวิจัย พบว่าแม่สุกรลำดับท้องที่ 1 สามารถผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อได้เช่นเดียวกับแม่สุกรลำดับท้องอื่นๆ

ผลการดำเนินการวิจัยช่วงที่สอง การผลิตลูกสุกรที่ปลอดเชื้อ

จากผลการวิจัยในช่วงแรกที่พบว่าการผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อจากแม่สุกรที่ติดเชื้อไม่ขึ้นอยู่กับลำดับท้องของแม่สุกร สายพันธุ์ และไม่ขึ้นกับระดับแอนติบอดี้ในกระแสเลือดของทั้งแม่และลูกสุกร แต่ขึ้นอยู่กับการติดเชื้อไวรัสของลูกสุกร ผู้วิจัยจึงได้ปรับเปลี่ยนวิธีการติดตามระดับแอนติบอดี้ในกระแสเลือดของลูก โดยเจาะเลือดแม่สุกรทุกท้องที่ ประมาณ 2 สัปดาห์ก่อนคลอด (อายุอุ้มท้องประมาณ 14 สัปดาห์) และเจาะเลือดลูกสุกรทุกตัวที่คลอดจากแม่เหล่านี้เมื่ออายุประมาณ 1 และ 3 สัปดาห์ (หรือก่อนหย่านมประมาณ 3 วัน) โดยเลือดลูกสุกรช่วงอายุ 3 สัปดาห์ ได้นำมารวมและตรวจพีซีอาร์เพื่อหาไวรัส นอกจากนั้นผู้วิจัยได้เพิ่มเติมในการตรวจระดับแอนติบอดี้ในสุกรอนุบาลทุกเดือนที่อายุ 5 8 และจนถึงอายุ 20 สัปดาห์

โดยผลการวิจัยในช่วงที่สองนี้พบว่า ถ้าสุกรที่อายุประมาณ 8 สัปดาห์ไม่มีระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อ ลูกสุกรนั้นจะเป็นลูกที่ปลอดเชื้อ และสามารถเป็นสุกรทดแทนที่ปลอดเชื้อ

จากผลการวิจัยในช่วงที่ 2 พบว่าสามารถ สามารถผลิตสุกรที่ปลอดเชื้อมากกว่า 1,200 ตัว ที่ไม่มีระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสน้อยกว่า 0.4 จากแม่คละท้องที่มีค่าเลือด (S/P ratio) จาก 0.00 ถึง 2.80 และตรวจหาไวรัสโดยวิธีพีซีอาร์ในสุกรจำนวนนี้ ให้ผลเป็นลบ นำสุกรปลอดเชื้อที่ผลิตได้แยกเลี้ยงและรอทดแทนฝูงแม่พันธุ์

นอกจากนั้นผลการวิจัยในช่วงที่ 2 ยังพบว่า มีสุกรประมาณ 20 ตัวที่ให้ผลเลือดเป็นบวกโดยวิธี ELISA (S/P ratio มากกว่า 0.4) เมื่อวัดแอนติบอดี้ในกระแสเลือด สุกรเหล่านี้มาจากแม่ที่มีค่าเลือดตั้งแต่ 0.40 ถึง 1.20 และการตรวจหาไวรัสโดยวิธีพีซีอาร์ในสุกรจำนวนนี้ ให้ผลส่วนใหญ่เป็นบวก

ผลการดำเนินการวิจัยช่วงที่สาม การนำสุกรปลอดเชื้อเข้าทดแทนในฝูงสุกรที่มีการติดเชื้อ

ผลการดำเนินการวิจัยในขั้นตอนที่ 2 สามารถผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสได้ ทางฟาร์มจึงได้วางแผนผลิตแม่สุกรทดแทนปลอดเชื้อจำนวน 1,200 ตัว เพื่อทดแทนฝูงแม่พันธุ์แท้เดิมทั้งหมด โดยวางแผนการทดแทนที่ประมาณ 60 เปอร์เซนต์

เมื่อครบกำหนดเวลาที่ปิดฝูงจากแม่สุกรทดแทน ทำการตรวจสอบการปล่อยเชื้อไวรัสของแม่นางที่อยู่ในฝูง โดยนำแม่สุกรสาวทดแทนที่ปลอดเชื้อประมาณ 2 ตัว (Sentinel) ไปขังในกรงตับ แทรกกับแม่นางเดิมในฝูงและเจาะตรวจเลือดวันแรกและอีกครั้งประมาณ 15 และ 30 วันถัดมา เพื่อหาปริมาณแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยวิธี ELISA (Idexx, USA) ผลเลือดแสดงระดับแอนติบอดี้พบว่า แม่สุกรสาวทดแทนที่ปลอดเชื้อ (sentinel) ทั้ง 2 ตัวมีผลเลือดที่เป็นลบ (S/P ratio = 0) ทั้ง 2 แม่

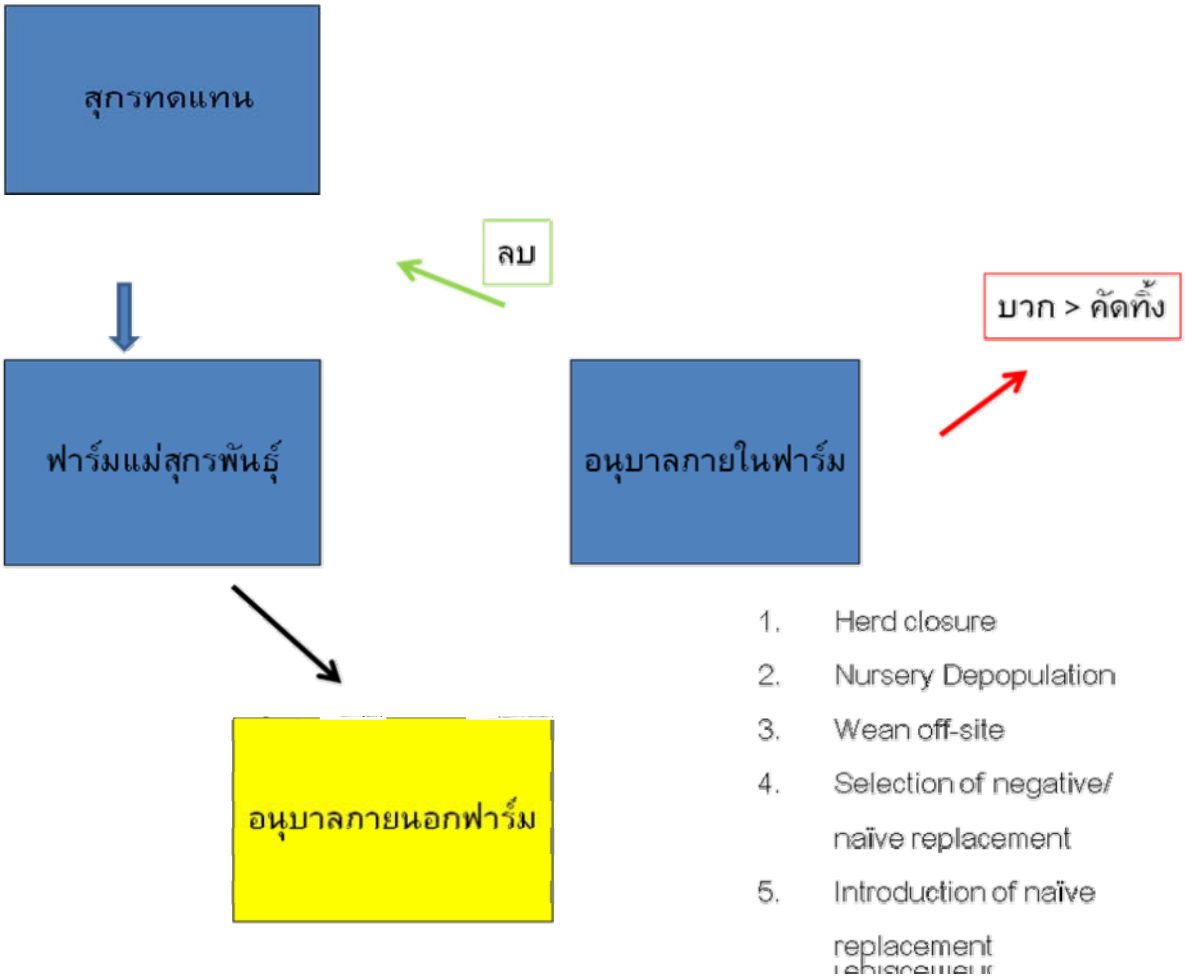
หลังจากนั้นจึงทำซ้ำแบบเดียวกันโดยใช้แม่สุกรสาวทดแทนปลอดเชื้อใหม่ (sentinel) อีก 2 ตัว และพบว่า แม่ทั้ง 2 ตัวยังมีผลเลือดที่เป็นลบ (S/P ratio = 0)

เมื่อพบว่าแม่สุกรสาวทดแทนที่ปลอดเชื้อ (sentinel) ทั้ง 2 ชุดมีระดับแอนติบอดี้ที่จำเพาะต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเมื่อวัดโดยวิธี ELISA (Idexx, USA) เป็นลบ (S/P ratio = 0) จึงนำแม่สุกรสาวทดแทนปลอดเชื้อที่ผลิตเตรียมไว้มาทดแทนแม่พันธุ์เดิมในฝูง และได้ฝูงแม่สุกรที่ปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสโดยใช้เวลาประมาณ 18 เดือน

สรุป

จากผลของการดำเนินงานวิจัยพบว่า สามารถผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อจากแม่สุกรที่ติดเชื้อได้ โดยการผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อจากแม่สุกรที่ติดเชื้อนั้น ไม่ขึ้นอยู่กับลำดับท้องของแม่สุกร และไม่ขึ้นกับระดับแอนติบอดี้ในกระแสเลือดของทั้งแม่และลูกสุกร เมื่อวัดโดยวิธี ELISA (Idexx, USA) แต่ขึ้นอยู่กับการติดเชื้อไวรัสของลูกสุกร เมื่อวัดโดยวิธีพีซีอาร์ สายพันธุ์ของแม่สุกร และการจัดการเช่น wean off-site และ herd closure และการติดเชื้อไวรัสของลูกสุกรพบตั้งแต่ช่วงเวลาที่อยู่ในระยะเลี้ยงลูก ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากการติดเชื้อผ่านทางรก (transplacental infection) ดังนั้นเพื่อที่จะสามารถผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อจากแม่สุกรที่ติดเชื้อได้ ต้องมีขั้นตอนการดำเนินงานดังต่อไปนี้ (ภาพที่ 4)

1. เติมแม่สุกรสาวทดแทน
2. ปิดฝูงและไม่ทดแทนแม่สุกรสาวทดแทนประมาณ 2 – 4 เดือน
3. คัดทิ้งสุกรอนุบาลออกจากฝูง (nursery depopulation)
4. ติดตามผลระดับแอนติบอดี้และไวรัสในกระแสเลือดลูกสุกร
5. คัดทิ้งลูกสุกรที่มีไวรัสในกระแสเลือด
6. แยกเลี้ยงลูกสุกรปลอดเชื้อ
7. ตรวจสอบการปล่อยเชื้อไวรัสในฝูงแม่พันธุ์
8. ทดแทนฝูงแม่พันธุ์ด้วยสุกรปลอดเชื้อ



ภาพที่ 4

แสดงขั้นตอนการการผลิตสุกรทดแทนปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอสจากฟาร์มติดเชื้อพีอาร์อาร์เอส

ปัญหาและอุปสรรค

ผลที่ได้จากงานวิจัยแสดงให้เห็นว่า ฟาร์มสุกรที่ติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสสามารถผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอสได้ และลูกสุกรปลอดเชื้อที่ผลิตได้นี้สามารถนำมาใช้เป็นสุกรสาวทดแทนเพื่อทดแทนฝูงสุกรเดิมที่มีการติดเชื้อให้กลายเป็นฝูงที่สุกรปลอดเชื้อได้ ตามขั้นตอนที่นำเสนอในรายงาน แต่อย่างไรก็ตามผู้วิจัยพบว่ามีปัญหาและอุปสรรคหลายประการ ที่ควรพิจารณาก่อนเริ่มดำเนินการเพื่อให้ฝูงปลอดเชื้อ โดยปัญหาและอุปสรรคสามารถรวมเป็นหัวข้อใหญ่ได้ดังต่อไปนี้

- ต้นทุนสำหรับการผลิตฝูงสุกรปลอดเชื้อ
- ระบบความปลอดภัยทางชีวภาพของฟาร์มและความเสี่ยงต่อการเกิดการระบาด

ปัญหาประการที่แรกที่พบสำหรับการดำเนินงานวิจัยคือ การทำฝูงสุกรปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอสมีต้นทุนการดำเนินงานที่ค่อนข้างสูง โดยเฉพาะค่าใช้จ่ายด้านการเจาะเลือดเพื่อตรวจวัดระดับแอนติบอดี้โดยวิธี ELISA ที่ใช้ในการติดตามผลและการตรวจหาไวรัสด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR) ที่มีราคาตัวอย่างละ 220 บาทสำหรับค่าตรวจเลือดโดยวิธี ELISA และราคาตัวอย่างละ 1,000 บาทสำหรับการตรวจด้วยวิธีพีซีอาร์ (PCR) นอกจากต้นทุนราคาค่าตรวจ ฟาร์มจะต้องมีต้นทุนค่าการจัดการ ในการวางระบบการผลิตสุกรรูปแบบใหม่เช่น การปิดฝูง (herd closure) และการหย่านมออกนอกฟาร์ม (off-site weaning) ที่สูง เนื่องจากต้องหาสถานที่และค่าดำเนินงานก่อสร้าง

นอกจากต้นทุนค่าใช้จ่ายในการติดตามระดับแอนติบอดี้โดยวิธี ELISA และการตรวจหาเชื้อไวรัสโดยวิธีพีซีอาร์ในกระแสเลือดแล้ว ในระหว่างดำเนินงานวิจัยในช่วงแรก ผู้วิจัยยังพบปัญหาเรื่อง False positive ของวิธี ELISA และปัญหาเรื่อง ความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ของวิธีพีซีอาร์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการต่างๆ เพื่อทดสอบหาเชื้อไวรัส โดยปัญหาเรื่อง False positive ของวิธี ELISA ผู้วิจัยประสบปัญหาในช่วงที่สามารถผลิตสุกรปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสได้แล้ว ผู้วิจัยพบว่าสุกรปลอดเชื้อหลายๆตัว มีค่าเลือดเป็นบวก (seroconversion) โดยมีระดับ S/P ratio ที่มากกว่า 0.4 ในบางช่วงเวลา ผู้วิจัยจึงได้แก้ไขโดยคัดเลือกสุกรที่มีค่าเลือดเป็นบวก (seroconversion) แยกออกจากสุกรอื่นและทำการตรวจซ้ำเพื่อยืนยันผล เมื่อจัดการเช่นนี้แล้วพบว่า สุกรส่วนใหญ่ให้ผลลบเมื่อตรวจซ้ำ ในขณะที่พบบางตัวยังมีระดับแอนติบอดี้ที่สูง ผู้วิจัยจึงคัดสุกรเหล่านั้นทิ้ง ส่วนปัญหา False negative นั้น ผู้วิจัยไม่พบปัญหา นอกจากปัญหา False positive ของวิธี ELISA แล้วการตรวจเชื้อไวรัสโดยวิธีพีซีอาร์ในตัวอย่างช่วงแรก ส่วนใหญ่จะได้ผลลบ ทางผู้วิจัยจึงได้แก้ไขโดยปรับปรุงวิธีพีซีอาร์และตรวจสอบเองในห้องปฏิบัติการของผู้วิจัย

ปัญหาประการที่สองที่พบสำหรับการดำเนินงานวิจัยคือ ความเสี่ยงต่อการเกิดการระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอสภายในฟาร์ม โดยก่อนที่จะดำเนินการวิจัย ผู้วิจัยได้ประเมินความเสี่ยงต่อการเกิดโรคระบาดต่าง และวางระบบความปลอดภัยทางชีวภาพเพื่อป้องกันโรค โดยผู้วิจัยได้แบ่งปัจจัยที่ก่อให้เกิดความเสี่ยงต่อการเกิดการระบาดของโรคดังหัวข้อต่อไปนี้

- ที่ตั้งฟาร์ม
    - ฟาร์มหนองกระทุ่มที่ร่วนในโครงการวิจัยและเป็นฟาร์มที่ผลิตพ่อแม่สุกรพันธุ์แท้ แม้จัดว่าฟาร์มอยู่ในเขตที่มีการเลี้ยงสุกรอย่างหนาแน่นที่สุดเขตหนึ่งในประเทศไทย แต่รอบข้างในรัศมี 2 กิโลเมตรไม่มีฟาร์มสุกรอยู่เลย แต่ห่างไป 3 กิโลเมตรมีฟาร์มขนาดใหญ่อยู่ 2 ฟาร์ม จึงถือว่ามีความเสี่ยงอยู่ในระดับหนึ่ง
- การขนส่ง
    - เพื่อป้องกันโรคทางฟาร์มจึงได้จัดรถขนส่งอาหารและสุกรแยกสำหรับฟาร์มต่างหาก
    - รถขนส่งซากสุกรจากภายนอก ทางฟาร์มได้จัดให้มีพื้นที่ขายซากสุกรภายนอกฟาร์ม
- ปัญหาเรื่องน้ำ
    - ฟาร์มพบปัญหาขาดน้ำในช่วงฤดูร้อนดังนั้นจึงจำเป็นต้องใช้แหล่งน้ำร่วมกับฟาร์มอื่นๆ แต่ความเสี่ยงต่อการระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอสในกรณีนี้มีน้อย แต่ฟาร์มจะพบปัญหาความเสี่ยงจากโรคปากและเท้าเปื่อย (Foot and Mouth disease) และโรคท้องเสียในลูกสุกร
- ปัญหาเรื่องการนำเข้าพันธุกรรม
    - การนำเข้าพันธุกรรมประกอบด้วย 2 ปัจจัยคือการนำเข้าสุกรทดแทนและการนำเข้านำเชื้อ ฟาร์มได้มีการปรับระบบโดยผลิตแม่สุกรทดแทนเองในฟาร์ม แต่พบว่าความเสี่ยงยังมีอยู่เนื่องจากหน่วยพ่อพันธุ์ (Boar stud) ที่ผลิตน้ำเชื้ออยู่อีกแห่งที่มีโอกาสเกิดการระบาดได้

เมื่อดำเนินงานวิจัยมาได้ประมาณ 1 ปี ฝูงสุกรแม่พันธุ์ประสบปัญหาการระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอส (outbreak) 1 ครั้ง และเป็นเวลาที่ฝูงสุกรแม่พันธุ์มีระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเป็นลบและลูกสุกรที่ผลิตได้ส่วนใหญ่มีสภาวะปลอดเชื้อ เมื่อสอบสวนทางระบาดวิทยาแล้วพบว่า สาเหตุของการระบาดมาจากน้ำเชื้อจากพ่อพันธุ์มีการปนเปื้อนเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส น้ำเชื้อที่ใช้มาจากยูนิตพ่อพันธุ์ (Boar stud) ที่ขังเฉพาะพ่อพันธุ์เพื่อรีดน้ำเชื้อและผลิตนำเชื้อเทียมสำหรับการผสมเทียม (Artificial insemination) เท่านั้น ยูนิตพ่อพันธุ์นี้ตั้งอยู่อีกที่หนึ่งซึ่งห่างจากฝูงสุกรแม่พันธุ์ปลอดเชื้อประมาณ 20 กิโลเมตร โดยปรกติฝูงพ่อพันธุ์ที่ใช้เป็นฝูงที่ปลอดเชื้อแต่เกิดการระบาดของโรคเนื่องจากความผิดผลาดทางระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ (biosecurity) ที่คนงานเลี้ยงสุกรขุนเข้ามาในบริเวณฝูงพ่อพันธุ์ ดังนั้นทางฟาร์มจึงสร้าง ยูนิตพ่อพันธุ์ (Boar stud) ใหม่และทดแทนพ่อพันธุ์ที่ปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

แต่อย่างไรก็ตามฝูงสุกรแม่พันธุ์ที่เกิดการระบาดนี้สามารถกลับมาอยู่ในสภาวะที่มีระดับแอนติบอดี้ต่อเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเป็นลบ และลูกสุกรที่ผลิตได้ส่วนใหญ่มีสภาวะปลอดเชื้อ ภายในระยะเวลา 1 ปี เพราะฉะนั้นคำถามสำหรับฟาร์มสุกรปลอดเชื้อคือ เมื่อฝูงปลอดจากเชื้อพีอาร์อาร์เอสแล้ว ในฟาร์มระดับมาตรฐานทั่วไป จะรักษาสภาวะปลอดเชื้อได้นานเท่าไร และอะไรคือปัจจัยเสี่ยงที่จะทำให้ฝูงปลอดเชื้อนี้เกิดการระบาดจากเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสได้อีก คำแนะนำจากผู้วิจัยเพื่อป้องกันปัญหานี้อยู่ในหัวข้อ **ความเห็นและข้อเสนอแนะ**

นอกจากการระบาดของโรคพีอาร์อาร์เอสแล้ว ฝูงสุกรแม่พันธุ์ที่กำลังอยู่ในสภาวะปลอดเชื้อ กลับพบการระบาดของโรคท้องเสียในลูกสุกรหรือโรคพีอีดี (Porcine epidemic diarrhea) ซึ่งโรคพีอีดีที่พบเป็นการระบาดครั้งแรกในประเทศไทย (pandemic) และเป็นการระบาดอย่างรุนแรง ส่งผลให้ลูกสุกรที่มีอายุต่ำกว่า 5 วันเสียหายทั้งหมด โดยการระบาดเริ่มต้นประมาณเดือน ตุลาคม พ.ศ. 2550 ณ ฟาร์มแห่งหนึ่งในอำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม และฝูงสุกรที่ปลอดเชื้อ ณ ฟาร์มหนองกระทุ่ม พบการระบาดในช่วงเดือนมกราคม ปีพ.ศ. 2551

ความเห็นและข้อเสนอแนะ

อุตสาหกรรมการผลิตสุกรในประเทศไทย สามารถแบ่งฟาร์มตามวัตถุประสงค์ในการผลิตสุกรได้ 2 รูปแบบคือ ฟาร์มสุกรระดับปู่ย่าพันธุ์ GGP (Great Grand Parent) และพ่อแม่สุกรพันธุ์แท้ GP (Grand Parent) ที่เป็นฟาร์มที่ผลิตแม่สุกร PS (Parent stock) สองสาย จำหน่ายแก่ฟาร์มทั่วไปเพื่อใช้เป็นแม่พันธุ์ และฟาร์มสุกรระดับ PS ที่เป็นฟาร์มผลิตสุกรขุนเพื่อจำหน่ายเนื้อสุกรสำหรับการบริโภค

เมื่อพิจารณาจากต้นทุนการผลิตฝูงสุกรปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและปัจจัยเสี่ยงของการเกิดการระบาดซ้ำแล้ว ผู้วิจัยมีความเห็นและข้อเสนอแนะว่า ฟาร์มที่สมควรเป็นฟาร์มที่ปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสมากที่สุด น่าจะเป็นฟาร์มสุกรระดับ GGP และ GP เนื่องจากความพร้อมในด้านการลงทุน เทคโนโลยี่และรูปแบบการจัดการฟาร์มต่างๆ รูปแบบโรงเรือนและระบบความปลอดภัยทางชีวภาพที่มีความพร้อมมากกว่าฟาร์มสุกรระดับ PS

ส่วนฟาร์มสุกรระดับ PS ถ้าต้องการที่จะเป็นฟาร์มปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ก็สามารถทำได้ แต่ต้องพิจารณาปัจจัยต่างๆ เช่น ความพร้อมในด้านการลงทุน ความคุ้มทุนของการผลิตสุกรปลอดเชื้อ ระบบการผลิตสุกรของฟาร์ม รูปแบบโรงเรือน ระบบความปลอดภัยทางชีวภาพ ความหนาแน่นของฟาร์มสุกรในบริเวณใกล้เคียง และความเสี่ยงต่อการระบาดซ้ำของโรคพีอาร์อาร์เอส และโรคอื่นๆ อย่างรอบคอบ แต่จากข้อมูลจากงานวิจัยครั้งนี้ ฟาร์มสุกรระดับ PS ไม่ควรที่จะเป็นฟาร์มสุกรปลอดเชื้อ น่าจะเป็นฟาร์มที่มีเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส แต่อยู่ในระดับ Stable

จากข้อมูลที่ได้รับจากงานวิจัยครั้งนี้ พบว่ามีข้อมูลบางประการที่น่าสนใจและและควรนำไปศึกษาเชิงลึกต่อ เช่น สายพันธุกรรมของสุกรและความต้านทานโรคพีอาร์อาร์เอส และถ้าเกษตรกรเลือกที่จะไม่เป็นฟาร์มที่ไม่ปลอดโรคพีอาร์อาร์เอสจะต้องทำอย่างไร โดยข้อมูลสำคัญที่ได้จากงานวิจัยคือ สุกรสายพันธุ์ Duroc เป็นสายพันธุ์ที่มีปัญหาผลผลิตตกต่ำจากโรคพีอาร์อาร์เอสน้อยที่สุดในช่วงที่เกิดการระบาด

ของโรคพีอาร์อาร์เอสเมื่อเปรียบเทียบกับสุกรสายพันธุ์ Landrace และ Large White โดยพบปัญหาแท้งกลับสัดและจำนวนลูกแรกคลอดอ่อนแอ ในแม่สุกรสายพันธุ์ Duroc น้อยมาก นอกจากนั้นพบว่าการผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อจากแม่สุกรสายพันธุ์ Duroc ทำได้ง่ายมาก ดังนั้นงานวิจัยทางด้านเครื่องหมายโมเลกุลที่มีความสัมพันธ์กับความต้านทานโรค จึงเป็นสิ่งที่ควรจะศึกษาเชิงลึกระดับโมเลกุลต่อ และดังที่กล่าวในข้างต้นว่าฟาร์มสุกรระดับ PS ไม่เหมาะที่จะเป็นฟาร์มสุกรปลอดเชื้อ ถ้าเกษตรกรเลือกที่จะไม่เป็นฟาร์มที่ไม่ปลอดโรคพีอาร์อาร์เอสควรจะต้องทำอย่างไร ทางผู้วิจัยได้พบว่าถ้ามีการนำเอาทฤษฎี SIR model มาประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรค สามารถทำให้สภาวะการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสของฟาร์มอยู่ในระดับ Stable ได้ ทฤษฎี SIR model สำหรับการควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอสจึงเป็นสิ่งที่ควรจะศึกษาเชิงลึกต่อ

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ บุคคลที่มีรายชื่อดังต่อไปนี้ ผู้ที่ให้ความช่วยเหลือและทำให้โครงการวิจัยนี้เสร็จสิ้นเป็นที่เรียบร้อย

- **ทีมงานบริษัท วี.ซี.เอฟ.กรุ๊ป จำกัด**
    - **คุณกฤชณรงค์ หิรัญรัชต์ คุณสมศักดิ์ ทองอินทร์ และคุณพรทิมล ตนสิงห์**
    - **ฟาร์มรางหวาย คุณจันทร พรมมา และคุณนันทิวัน พุฒิบัวทอง**
    - **ฟาร์มหนองกระทุ่ม คุณวิวัฒน์ คนยัง**
- **คุณสถิตย์ โชติภิญโญกุล คุณสุนิสา ไลตระกูล และ คุณจารุพล ขาวภา บริษัท ฟอร์ด ดอดจ์ ประเทศไทย จำกัด**
- **น.สพ. อัมพล ชโยมชัย บริษัท อีไล ลิลลี่อิงค์ ประเทศไทย จำกัด**

บรรณานุกรม

Allende, R., Kutish, G.F., Laegreid, W., Lu, Z., Lewis, T.L., Rock, D.L., Friesen, J., Galeota, J.A., Doster, A.R., Osorio, F.A., 2000a, Mutations in the genome of porcine reproductive and respiratory syndrome virus responsible for the attenuation phenotype. Arch Virol 145, 1149-1161.

Allende, R., Laegreid, W.W., Kutish, G.F., Galeota, J.A., Wills, R.W., Osorio, F.A., 2000b, Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: description of persistence in individual pigs upon experimental infection. J Virol 74, 10834-10837.

Baker, B., Thacker, B.J., Thacker, E.L., Vincent, A., 1999, A preliminary investigation into possible PRRSV anergy induction from repeated immunization with a modified live vaccine. Proc Allen D. Leman Swine Conference, 31.

Botner, A., Strandbygaard, B., Sorensen, K.J., Have, P., Madsen, K.G., Madsen, E.S., Alexandersen, S., 1997, Appearance of acute PRRS-like symptoms in sow herds after vaccination with a modified live PRRS vaccine. Vet Rec 141, 497-499.

Cavanagh, D., 1997, Nidovirales: a new order comprising Coronaviridae and Arteriviridae. Arch Virol 142, 629-633.

Christopher-Hennings, J., Nelson, E.A., Nelson, J.K., Benfield, D.A., 1997, Effects of a modified-live virus vaccine against porcine reproductive and respiratory syndrome in boars. Am J Vet Res 58, 40-45.

Christopher-Hennings, J., Nelson, E.A., Nelson, J.K., Hines, R.J., Swenson, S.L., Hill, H.T., Zimmerman, J.J., Katz, J.B., Yaeger, M.J., Chase, C.C., et al., 1995, Detection of porcine reproductive and respiratory syndrome virus in boar semen by PCR. J Clin Microbiol 33, 1730-1734.

Collins, J.E., Benfield, D.A., Christianson, W.T., Harris, L., Hennings, J.C., Shaw, D.P., Goyal, S.M., McCullough, S., Morrison, R.B., Joo, H.S., et al., 1992, Isolation of swine infertility and respiratory syndrome virus (isolate ATCC VR-2332) in North America and experimental reproduction of the disease in gnotobiotic pigs. J Vet Diagn Invest 4, 117-126.

Goldberg, T.L., Lowe, J.F., Milburn, S.M., Firkins, L.D., 2003, Quasispecies variation of porcine reproductive and respiratory syndrome virus during natural infection. Virology 317, 197-207.

Hill, H.T., 1990, Overview and history of mystery swine disease (swine infertility/ respiratory syndrome). Proc Mystery Swine Disease Committee Meeting, 29-31.

Madsen, K.G., Hansen, C.M., Madsen, E.S., Strandbygaard, B., Botner, A., Sorensen, K.J., 1998, Sequence analysis of porcine reproductive and respiratory syndrome virus of the American type collected from Danish swine herds. Arch Virol 143, 1683-1700.

Meier, W., Wheeler, J., Husmann, R.J., Osorio, F.A., Zuckermann, F.A., 2000, Characteristics of the immune response of pigs to wild-type PRRS virus or to commercially available vaccines: an unconventional response. Proc American Association of Swine Practitioners, 415-418.

Meier, W.A., Galeota, J., Osorio, F.A., Husmann, R.J., Schnitzlein, W.M., Zuckermann, F.A., 2003, Gradual development of the interferon-gamma response of swine to porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection or vaccination. Virology 309, 18-31.

Meng, X.J., 2000, Heterogeneity of porcine reproductive and respiratory syndrome virus: implications for current vaccine efficacy and future vaccine development. Vet Microbiol 74, 309-329.

Mengeling, W.L., Lager, K.M., Vorwald, A.C., 1999, Safety and efficacy of vaccination of pregnant gilts against porcine reproductive and respiratory syndrome. Am J Vet Res 60, 796-801.

Mengeling, W.L., Lager, K.M., Vorwald, A.C., Clouser, D.F., 2003a, Comparative safety and efficacy of attenuated single-strain and multi-strain vaccines for porcine reproductive and respiratory syndrome. Vet Microbiol 93, 25-38.

Mengeling, W.L., Lager, K.M., Vorwald, A.C., Koehler, K.J., 2003b, Strain specificity of the immune response of pigs following vaccination with various strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Vet Microbiol 93, 13-24.

Meulenberg, J.J., 2000, PRRSV, the virus. Vet Res 31, 11-21.

Meulenberg, J.J., Petersen den Besten, A., de Kluyver, E., van Nieuwstadt, A., Wensvoort, G., Moormann, R.J., 1997, Molecular characterization of Lelystad virus. Vet Microbiol 55, 197-202.

Nelson, E.A., Christopher-Hennings, J., Benfield, D.A., 1994, Serum immune responses to the proteins of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus. J Vet Diagn Invest 6, 410-415.

Nielsen, H.S., Oleksiewicz, M.B., Forsberg, R., Stadejek, T., Botner, A., Storgaard, T., 2001, Reversion of a live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccine investigated by parallel mutations. J Gen Virol 82, 1263-1272.

Nilubol, D., Platt, K.B., Halbur, P.G., Torremorell, M., 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, 11-18.

Osorio, F.A., Galeota, J.A., Nelson, E., Brodersen, B., Doster, A., Wills, R., Zuckermann, F., Laegreid, W.W., 2002, Passive transfer of virus-specific antibodies confers protection against reproductive failure induced by a virulent strain of porcine reproductive and respiratory syndrome virus and establishes sterilizing immunity. Virology 302, 9-20.

Pirzadeh, B., Dea, S., 1998, Immune response in pigs vaccinated with plasmid DNA encoding ORF5 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. J Gen Virol 79 (Pt 5), 989-999.

Terpstra, C., Wensvoort, G., Pol, J.M., 1991, Experimental reproduction of porcine epidemic abortion and respiratory syndrome (mystery swine disease) by infection with Lelystad virus: Koch's postulates fulfilled. Vet Q 13, 131-136.

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

Torremorell, M., Henry, S.C., Moore, C., 2000, Producing PRRSV negative herds and systems from PRRSV positive animals: the principles, the process and the achievement. Proc American Association of Swine Practitioners, 341-347.

Torremorell, M., Moore, C., Christianson, W.T., 2002, Establishment of a herd negative for porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) from PRRSV-positive sources. J Swine Health Prod 10, 153-160.

Wensvoort, G., de Kluyver, E.P., Luijtze, E.A., den Besten, A., Harris, L., Collins, J.E., Christianson, W.T., Chladek, D., 1992a, Antigenic comparison of Lelystad virus and swine infertility and respiratory syndrome (SIRS) virus. J Vet Diagn Invest 4, 134-138.

Wensvoort, G., de Kluyver, E.P., Pol, J.M., Wagenaar, F., Moormann, R.J., Hulst, M.M., Bloemraad, R., den Besten, A., Zetstra, T., Terpstra, C., 1992b, Lelystad virus, the cause of porcine epidemic abortion and respiratory syndrome: a review of mystery swine disease research at Lelystad. Vet Microbiol 33, 185-193.

Wensvoort, G., Terpstra, C., Pol, J.M., ter Laak, E.A., Bloemraad, M., de Kluyver, E.P., Kragten, C., van Buiten, L., den Besten, A., Wagenaar, F., et al., 1991, Mystery swine disease in The Netherlands: the isolation of Lelystad virus. Vet Q 13, 121-130.

Wills, R.W., Zimmerman, J.J., Yoon, K.J., Swenson, S.L., McGinley, M.J., Hill, H.T., Platt, K.B., Christopher-Hennings, J., Nelson, E.A., 1997, Porcine reproductive and respiratory syndrome virus: a persistent infection. Vet Microbiol 55, 231-240.

Yoon, K.J., Zimmerman, J.J., Swenson, S.L., McGinley, M.J., Eernisse, K.A., Brevik, A., Rhinehart, L.L., Frey, M.L., Hill, H.T., Platt, K.B., 1995, Characterization of the humoral immune response to porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus infection. J Vet Diagn Invest 7, 305-312.

Yuan, S., Nelsen, C.J., Murtaugh, M.P., Schmitt, B.J., Faaberg, K.S., 1999, Recombination between North American strains of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Virus Res 61, 87-98.

Zuckermann, F.A., 1999, Extrathymic CD4/CD8 double positive T cells. Vet Immunol Immunopathol 72, 55-66.

Zuckermann, F.A., Husmann, R.J., Schwartz, R., Brandt, J., Mateu de Antonio, E., Martin, S., 1998, Interleukin-12 enhances the virus-specific interferon gamma response of pigs to an inactivated pseudorabies virus vaccine. Vet Immunol Immunopathol 63, 57-67.

ภาคผนวก

บทความสำหรับการเผยแพร่

แนวทางการผลิตฝูงสุกรปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอส

โรคพีอาร์อาร์เอส (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome) เกิดจากเชื้อไวรัสในกลุ่ม Arteriviridae พบการระบาดครั้งแรกที่ประเทศสหรัฐอเมริกาในปี ๒๕๓๐ และได้สร้างความเสียหายทางเศรษฐกิจแก่อุตสาหกรรมการเลี้ยงสุกรไปทั่วโลก ในประเทศไทย ฟาร์มสุกรมากกว่าร้อยละ ๘๐ พบปัญหาการติดเชื้อดังกล่าวในรูปแบบความเสียหายที่แตกต่างกันไป แต่การควบคุมโรคยังคงทำได้ลำบาก เพราะเป็นการติดเชื้อแบบติดทนนาน (Persistent infection) คือเชื้อจะอยู่ในตัวสุกรไปตลอด ไม่สามารถกำจัดออกได้ ทำให้มีโอกาสเกิดการระบาดใหม่ได้ตลอดเวลา

ผศ.น.สพ.ดร.เดชฤทธิ์ นิลอุบล ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาฯ ได้ศึกษาวิจัยเรื่อง **"การผลิตฝูงสุกรปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอส"** กล่าวว่า ปัญหาหลักของโรคพีอาร์อาร์เอสคือทำให้เกิดอาการแท้งในแม่สุกร และสร้างผลกระทบต่อระบบทางเดินหายใจในสุกรอนุบาลอายุ ๔ – ๑๐ สัปดาห์ และสุกรขุนอายุ ๑๐ – ๒๔ สัปดาห์ ทำให้มีอัตราการตายสูงกว่าปกติ สำหรับผู้บริโภคจะไม่มีผลกระทบในแง่เนื้อสัตว์ แต่เมื่อฟาร์มผลิตสุกรได้น้อยลง จะทำให้ปริมาณเนื้อสุกรที่ออกสู่ตลาดน้อยลง ผู้บริโภคจึงต้องซื้อเนื้อสุกรในราคาที่แพงขึ้น หลักการควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอสที่ดีที่สุดซึ่งต่างประเทศนิยมใช้คือการสร้างฝูงสุกรปลอดเชื้อ ซึ่งวิธีการที่ง่ายและสัมฤทธิ์ผลมากที่สุดคือการคัดทิ้งสุกรทั้งฝูงและนำสุกรสาวที่ปลอดเชื้อเข้ามาทดแทน แต่วิธีการนี้มีค่าใช้จ่ายสูงมาก เพราะต้นทุนแม่สุกรหนึ่งตัวมีราคาถึง ๗,๐๐๐ - ๘,๐๐๐ บาท อีกทั้งประเทศไทยในช่วง ๔ – ๕ ปีที่แล้วยังมีสุกรสาวปลอดเชื้อทดแทนค่อนข้างจำกัดหรือไม่มีเลย ทำให้ในประเทศไทยมีการใช้หลักการนี้เฉพาะในฟาร์มขนาดใหญ่ที่ใช้เทคโนโลยีการผลิตของต่างประเทศเท่านั้น ส่วนในฟาร์มทั่วไปจะควบคุมโรคโดยการทำให้ฝูงสุกรมีระดับภูมิคุ้มกันในการป้องกันการติดเชื้อ และการปรับสภาพสุกรสาวทดแทนก่อนเข้าฝูงแม่พันธุ์ให้มีระดับภูมิคุ้มกันต่อเชื้อ ด้านการพัฒนายารักษาหรือวัคซีนก็ทำได้ยากมาก และที่มีใช้ในปัจจุบันก็ยังไม่มีประสิทธิภาพเท่าที่ควร เนื่องจากเชื้อมีคุณสมบัติที่แปลกจากเชื้อไวรัสชนิดอื่นหลายประการ เช่น มีความแตกต่างกันเองทางพันธุกรรมค่อนข้างสูงมาก มีการกดภูมิคุ้มกันที่ค่อนข้างสูง ทำให้สุกรติดเชื้อไวรัสตัวอื่นได้ง่าย ภูมิคุ้มกันของโรคเกิดช้ามาก ฯลฯ

สำหรับผลงานวิจัยดังกล่าว ผศ.น.สพ.ดร.เดชฤทธิ์ เปิดเผยว่า ได้รับทุนวิจัยจาก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ให้ทำงานร่วมกับฟาร์มสุกร เพื่อศึกษาวิจัยหาแนวทางในการสร้างฟาร์มปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอส จากงานวิจัยพบว่าลักษณะการติดเชื้อในฟาร์มทั่วไปแบ่งได้เป็น ๔ รูปแบบ คือ ฟาร์มปลอดเชื้อ ฟาร์มที่มีปัญหาในฝูงแม่พันธุ์ ฟาร์มที่มีปัญหาในลูกสุกรอนุบาล และฟาร์มที่มีปัญหาในลูกสุกรขุน เนื่องจากโรคนี้มีลักษณะการติดเชื้อที่สำคัญคือ สามารถแพร่เชื้อจากแม่สุกรสู่ลูกสุกรในครรภ์ผ่านทางรก แต่เชื้อที่อยู่ในลูกสุกรจะสร้างความเสียหายเมื่ออายุเท่าใดจะขึ้นอยู่กับรูปแบบการจัดการฝูงแม่สุกร หากมีระบบการจัดการที่ดี จำนวนเชื้อที่จะถ่ายสู่ลูกสุกรก็จะน้อยลงตามลำดับ สำหรับแนวทางในการผลิตฝูงสุกรปลอดเชื้อของการวิจัยครั้งนี้จะเริ่มจากการใช้ระบบการปิดฝูงคือ ไม่เติมสุกรสาวเข้าไปทดแทนแม่พันธุ์แก่ ซึ่งเมื่อปิดฝูงจำนวนไวรัสในฟาร์มก็จะน้อยลงไปเอง ใช้เวลาปิดฝูงประมาณ ๔ เดือนก็ทำการคัดทิ้งแม่พันธุ์แก่ และทำการเจาะเลือดแม่สุกรก่อนคลอดเพื่อตรวจระดับภูมิคุ้มกัน เมื่อลูกสุกรคลอดได้ ๓ สัปดาห์ทำการตรวจเลือดว่าได้รับเชื้อมาจากแม่พันธุ์หรือไม่ หากได้รับเชื้อก็จะทำการคัดทิ้งคือการแยกออกไปเลี้ยงที่อื่น หากปลอดเชื้อให้นำไปเลี้ยงรวมในพื้นที่ที่แยกออกมาต่างหาก แล้วทำการตรวจเลือดเป็นระยะๆ จนถึงอายุ ๒๔ – ๒๘ สัปดาห์ หากยังปลอดเชื้อก็สามารถนำเข้าไปไว้ในฝูงทดแทนได้ จากการศึกษาพบว่าเมื่อดำเนินการระบบนี้ไปประมาณ ๑ ปี – ๑ปีครึ่ง จะสามารถผลิตฝูงสุกรปลอดเชื้อได้ โดยปัจจุบันสามารถผลิตฝูงสุกรปลอดเชื้อได้แล้วประมาณ ๑ ฟาร์ม รวมมีสุกรสาวทดแทนที่ปลอดเชื้อประมาณ ๑,๒๐๐ ตัว

ผศ.น.สพ.ดร.เดชฤทธิ์ กล่าวเพิ่มเติมว่า จากการสัมภาษณ์เจ้าของและผู้ดูแลฟาร์มปลอดเชื้อที่สร้างขึ้นนี้พบว่า สุกรเจริญเติบโตได้ดีกว่าเดิมมาก มีโรคแทรกซ้อนน้อยลงอย่างเห็นได้ชัด การใช้ยาและวัคซีนต่างๆ ในฟาร์มก็ค่อนข้างน้อยลงมาก ทำให้ต้นทุนในการผลิตค่อนข้างต่ำ แต่ปัญหาคือ หากฟาร์มไม่มีระบบความปลอดภัยทางชีวภาพหรือ Biosecurity ที่ดีมากพอ ก็มีความเสี่ยงสูงที่การติดเชื้อจะกลับมาอีกครั้ง จึงควรมีการสร้างระบบ Biosecurity เช่น การเลี้ยงสุกรในโรงเรือนปิด ตั้งฟาร์มให้อยู่ห่างจากชุมชน เขตความเสี่ยง ท้องถนน และฟาร์มอื่นๆ แยกการใช้รถภายในและนอกฟาร์ม เป็นต้น เพื่อรองรับการผลิตฟาร์มปลอดเชื้อด้วย นอกจากนี้ต้นทุนในการผลิตและขั้นตอนดำเนินการ เช่น การเจาะเลือดเพื่อตรวจเชื้อ ฯลฯ ยังค่อนข้างสูง ผู้วิจัยจึงได้ดำเนินการวิจัยอีกชิ้นหนึ่งเป็นการประยุกต์ใช้ SIR model ในการควบคุมโรค เพื่อให้ฟาร์มรายย่อยหรือฟาร์มที่ไม่ต้องการทำฝูงสุกรปลอดเชื้อได้มีทางเลือกอีกหนึ่งรูปแบบในการอยู่ร่วมกับโรค ส่วนรูปแบบการผลิตฝูงสุกรปลอดเชื้อดังกล่าวก็จะมีการถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ฟาร์มที่ต้องการต่อไป

กิจกรรมที่เกี่ยวข้องกับการนำผลจากโครงการไปใช้ประโยชน์

ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

1. Manuscript เรื่อง Increased heterogeneity of Thailand porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) open reading frame 5 compared to isolates reported in 2004 กำลังอยู่ในระหว่างการตรวจทานภาษา และสามารถส่งตีพิมพ์ได้ประมาณ เดือน มกราคม พ.ศ. 2554
2. Manuscript เรื่อง Application of sentinel pigs to detect PRRSV shedding in the sow herd and introduction of gilts (อยู่ในระหว่างการจัดเตรียมต้นฉบับ)

ผลงานวิจัยที่นำเสนอในงานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

ได้นำเสนอผลงานในงานประชุมวิชาการระดับนานาชาติจำนวน 4 ครั้ง

1.Nilubol D, Nantawan Na Ayudhaya S. Production of PRRSV negative pigs from a PRRSV positive herd does not depend on serostatus of sows. Proc of International PRRS Symposium, Chicago, Illinois, USA, December 2007: pp 62

2.Nilubol D, Nantawan Na Ayudhaya S. Production of PRRSV negative pigs from a PRRSV positive herd does not depend on serostatus of sows. Proc of APVS congress, Wuhan, China, April 2008

3.T. Hoonsuwan, T. Tripipat, P., Kitrungloadjanaporn, S. Laopracha, **D. Nilubol**. 2010. Genetic variation of PRRSV ORF5 following modified live PRRSV vaccination in a PRRSV positive herd. The 2010 CRWAD, December 5 – 7, 2010, Chicago, Illinois, p192

4.T. Hoonsuwan, T. Tripipat, P., Kitrungloadjanaporn, S. Laopracha, **D. Nilubol**. 2010. Genetic variation of PRRSV ORF5 following modified live PRRSV vaccination in a PRRSV positive herd. The 2010 International PRRS Symposium, December 3, 2010, Chicago, IL

ตารางที่1 เปรียบเทียบวัตถุประสงค์และผลที่ได้รับ

วัตถุประสงค์โครงการ	กิจกรรมที่วางแผนและดำเนินงาน	ผลที่ได้รับ
ศึกษาปัจจัยและแนวทางในการผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส	วิเคราะห์ความสัมพันธุ์ของระดับแอนติบอดี้และไวรัสในลูกและแม่ สายพันธุ์และลำดับท้อง	ปัจจัยที่ส่งผลการผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส
ศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตลูกสุกรที่ปลอดเชื้อจากฟาร์มติดเชื้อ	รูปแบบและวิธีการที่ใช้ตรวจแม่สุกรเพื่อผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอสและเป็นลูกสุกรปลอดเชื้อที่สามารถเป็นสุกรทดแทนที่ปลอดเชื้อได้	ลูกสุกรปลอดเชื้อ
การนำสุกรปลอดเชื้อเข้าทดแทนในฝูงสุกรที่มีการติดเชื้อ	ตรวจสอบการปล่อยเชื้อไวรัสของฝูงแม่พันธุ์ด้วย sentinel	ฟาร์มสุกรปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอส

ผลจากงานวิจัยและการนำไปใช้ประโยชน์

ผลงานวิจัยจากโครงการนี้ถึงปัจจุบัน (โดยสรุป)

1.1 รูปแบบและวิธีการที่ใช้ในฟาร์มสุกรแม่พันธุ์ที่มีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสเพื่อผลิตลูกสุกรปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอส

1.2 แม่สุกรสาวทดแทนที่ปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส

1.3 ฟาร์มสุกรปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอส (ฟาร์มที่ดำเนินการวิจัย)

1.4 พัฒนาวิธี “PigImmunoFlow™” เพื่อใช้เป็นวิธีการในการควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอสโดยไม่ใช้วัคซีน (ในกรณีที่ฟาร์มสุกรไม่ต้องการเป็นฟาร์มที่ปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส)

1.4.1 PigImmunoFlow™

1.5 Software ที่ใช้ติดตามผลระดับแอนติบอดี้ในแม่และลูกสุกร

1.5.1 CheckPRRSV

ผลงานวิจัยของโครงการนี้ภาคเอกชนได้นำไปใช้ประโยชน์หรือแก้ไขปัญหาของภาคเอกชนอย่างไร

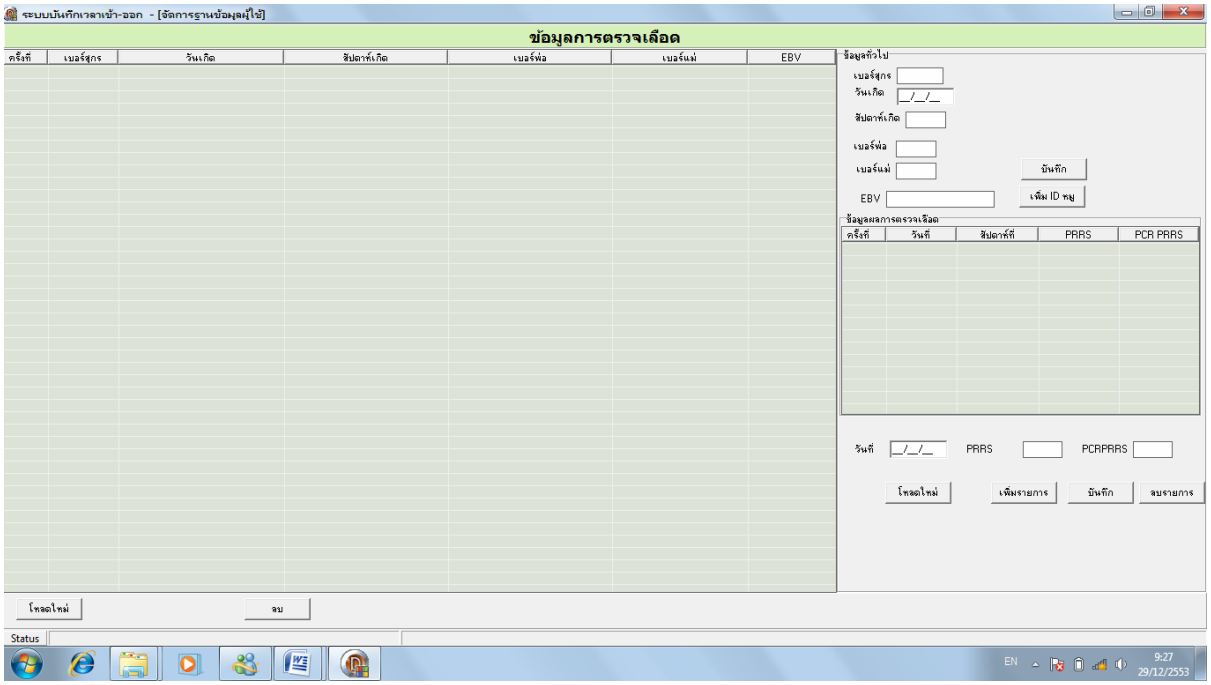
2.1 ปัจจุบันมีฟาร์มสุกรปลอดเชื้อพีอาร์อาร์เอสจำนวน 1 ฟาร์มที่เป็นผลผลิตจากโครงการวิจัยนี้

2.2 ผู้วิจัยกำลังดำเนินการปรับฟาร์มสุกรที่มีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสให้เป็นฟาร์มสุกรปลอดเชื้ออีก 3 ราย

2.3 ฟาร์มสุกรที่มีการติดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสจำนวน 5 ฟาร์มนำหลักการ PigImmunoFlow™ ที่ได้จากงานวิจัย ไปใช้ควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอสโดยไม่ใช้วัคซีน

ผลอื่นๆที่ได้จากงานวิจัย Software ที่ใช้ติดตามผลระดับแอนติบอดี้ในแม่และลูกสุกร

ปัจจุบันได้พัฒนา software เพื่อติดตามผลเลือดสุกรขึ้นมา มีชื่อว่า CheckPRRSV



การเชื่อมโยงทางวิชาการกับนักวิชาการอื่น ๆทั้งในและต่างประเทศ

จากผลการทดลองที่พบว่าสามารถผลิตสุกรปลอดเชื้อได้ง่ายมากจากแม่สุกรบางสายพันธุ์ได้และแม่สุกรบางสายพันธุ์ไม่แสดงอาการของโรคพีอาร์อาร์เอส ผู้วิจัยจึงมีโครงการร่วมกับอาจารย์จากภาควิชา สัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นำโดย ผศ.ดร. เนรมิต สุขมณี และ รศ.ดร. ศรีสุวรรณ ชมชัย เพื่อทำการศึกษาวิจัยในโครงการสายพันธุ์สุกรในประเทศไทยและความต้านทานต่อโรคพีอาร์อาร์เอส

จากการที่ได้นำเสนอผลงานที่ประเทศสหรัฐอเมริกา ทำให้มีสัตวแพทย์จากประเทศเนเธอร์แลนด์ให้ความสนในและแลกเปลี่ยนประสบการณ์การผลิตฝูงสุกรปลอดเชื้อ

จำนวนและรายละเอียดการได้รับเชิญไปเป็นวิทยากร

ผู้วิจัยได้รับเชิญจากบริษัทเอกชนและกรมปศุสัตว์ เพื่อเป็นวิทยากรอบรมเรื่องการผลิตสุกรปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและการจัดการควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอสในฝูงสุกร

วันที่	**หัวข้อเรื่องและสถานที่**
2 มีนาคม 2553	เรื่อง การจัดการฝูงสุกรปลอดเชื้อโรค PRRS และการเพิ่มผลผลิตลูกสุกรหย่านมต่อครอกต่อปี ณ ห้องประชุมของบริษัทอกรีไทยฯ จัดโดย บริษัท อกรีไทย แอนด์ คอนซัลแทนต์ จำกัด
5 เมษายน 2553	เรื่อง การผลิตสุกรปลอดเชื้อ พีอาร์อาร์เอส และการควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอส มัยโครพาสม่าและเซอร์โคไวรัส ณ โรงแรมชาเทรียม สวีท กรุงเทพมหานคร จัดโดย บริษัท เมเรียล (ประเทศไทย) จำกัด
20 เมษายน 2553	เรื่อง การสร้างฝูงสุกรปลอดจากโรคพีอาร์อาร์เอส (PRRS) ณ บริษัท ไทยฟู้ด กรุ๊ป จำกัด จังหวัดพระนครศรีอยุธยา จัดโดย บริษัท ฟีด แอนด์ อินกรีเดียน จำกัด
26 เมษายน 2553	เรื่อง การควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอส (PRRS) โดยการจัดการ ณ โรงพยาบาลปศุสัตว์ จังหวัดนครปฐม จัดโดย บริษัท ฟีด แอนด์ อินกรีเดียน จำกัด
27 เมษายน 2553	เรื่อง การทำฝูงสุกรให้ปลอด PRRS และการควบคุม PRRS ด้วยการจัดการ ณ โรงแรมสระบุรีอินน์ จังหวัดสระบุรี จัดโดย บริษัท พีไอซี สยาม จำกัด
12 พฤษภาคม 2553	เรื่อง การจัดการเพื่อลดความสูญเสียจากโรค PRRS และโรค PED

ณ โรงงานอาหารสัตว์ บริษัท ไทยฟู้ดส์ กรุ๊ป จำกัด อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี
จัดโดย บริษัท เมเรียล (ประเทศไทย) จำกัด ร่วมกับบริษัท ฟีดแอนด์ อินกรีเดียน เทคโนโลจิคัล ฮับ จำกัด

14 พฤษภาคม 2553 เรื่อง การควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอส (PRRS) โดยการจัดการ
ณ บริษัท เซนทาโกรฟาร์ม จำกัด อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา
จัดโดย บริษัท ฟีด แอนด์ อินกรีเดียน จำกัด

17 พฤษภาคม 2553 เรื่อง การผลิตสุกรปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส การเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอสและปัญหาที่พบด้านการวิเคราะห์โรค
ณ โรงแรมรามาการ์เดนส์ กรุงเทพมหานคร
จัดโดย บริษัท คาร์กิลล์สยาม จำกัด

18 มิถุนายน 2553 เรื่องโครงการอบรมการจัดการขั้นสูงด้านสุขภาพของฟาร์มสุกร
ณ โรงแรม ที.เค พาเลซ กรุงเทพมหานคร
จัดโดย บริษัท ฟีด แอนด์ อินกรีเดียน เทคโนโลจิคัล ฮับ จำกัด และบริษัท เมเรียล (ประเทศไทย) จำกัด

23 – 24 มิถุนายน 2553 เรื่อง การจัดการควบคุมและผลิตสุกรปลอดเชื้อไวรัสพีอาร์อาร์เอส ทีมสัตวบาลและเกษตรกร ฟาร์มลูกค้าของบริษัทภาคใต้ค้าสัตว์ จำกัด
ณ ห้องประชุมบริษัท อ. เมือง จังหวัดนครศรีธรรมราช
จัดโดย บริษัท บิ๊ค เคมิคอล จำกัด และ วี.ซี.เอฟ กรุ๊ป จำกัด

7 กรกฎาคม 2553 เรื่อง การควบคุมโรคพีอาร์อาร์เอส (PRRS) โดยการจัดการ
ณ แสนสุขฟาร์ม จังหวัดชลบุรี
จัดโดย บริษัท ฟีด แอนด์ อินกรีเดียน จำกัด และบริษัท คาร์กิลล์สยาม จำกัด

4 สิงหาคม 2553 เรื่อง การจัดการองค์ความรู้ทางด้านโรคของสุกร
ณ ห้องประชุมของบริษัทฯ อาคารจัสมินอินเตอร์เนชั่นแนล ชั้นที่ 18
จัดโดย บริษัท อีไล ลิลลี่ เอเชีย อิงค์ สาขาประเทศไทย แผนกยาสัตว์ (อีแลนโค)

12-13 มกราคม 2554 เรื่อง การประชุมสัมมนาเรื่องการควบคุมโรค PRRS แก่นายสัตวแพทย์ของกรมปศุสัตว์
ณ โรงแรมหลุยส์ แทเวิร์น กรุงเทพมหานคร
จัดโดย กองควบคุมโรคระบาดสัตว์ กรมปศุสัตว์