วารสารแก่นเกษตร THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

การเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติกเอนเทอโรคอคคัส อีทาลิคัส (*Enterococcus italicus*) ในแม่สุกรระยะอุ้มท้องต่อภูมิคุ้มกันการติดโรคท้องร่วงติดต่อในสุกร (Porcine Epidemic Diarrhea) ของลูกสุกรระยะดูดนม

Probiotic *Enterococcus italicus* supplementation in pregnant sows improve immunity against Porcine Epidermic Diarrhea in suckling piglet

จารุณี เกษรพิกุล[1] และสุรวัฒน์ ชลอสันติสกุล[1]*

Charunee Kasornpikul[1] and Surawat Chalorsuntisakul[1]*

[1] *คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี*
[1] *Faculty of Animal Sciences and Agricultural Technology, Silpakorn University, Phetchaburi IT Campus*

บทคัดย่อ: การติดเชื้อไวรัสโรคท้องร่วงติดต่อในสุกรหรือพีอีดี (Porcine Epidemic Diarrhea: PED) สามารถก่อให้เกิดโรคได้ในสุกรทุกช่วงอายุ โดยลูกสุกรแรกเกิดมักมีอัตราการตายเกือบร้อยละ 100 และในลูกสุกรระยะดูดนมจะมีอัตราการตายถึงร้อยละ 80 การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติกเอนเทอโรคอคคัส อีทาลิคัส (Enterococcus italicus) ให้แม่สุกรระยะอุ้มท้อง เพื่อศึกษาระดับภูมิคุ้มกันของลูกสุกรดูดนมที่ติดเชื้อโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดี โดยทำการเลี้ยงสุกรแม่พันธุ์ซึ่งเป็นแม่สุกรระยะอุ้มท้องครั้งแรก จำนวน 18 ตัว แบ่งแม่สุกรออกเป็น 2 กลุ่ม ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ตัว ทั้งนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design: CRD) โดยให้อาหารวันละ 2 กิโลกรัม และให้น้ำแบบกินได้เต็มที่ตลอดเวลา ทำการแบ่งกลุ่มทดลอง ดังนี้กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม ให้อาหารสำเร็จรูปแต่เพียงอย่างเดียว และ กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มทดลอง ให้อาหารสำเร็จรูปที่ผสมกับโปรไบโอติกส์ ไม่น้อยกว่า 1X106 ซีเอฟยูต่อกรัมของอาหาร (CFU/g) ตลอดระยะเวลาเลี้ยง การอุ้มท้อง การคลอด และระยะการให้นมของสุกรแม่พันธุ์ โดยก่อนถึงกำหนดคลอด 2 สัปดาห์ ทำการป้อนเชื้อพีอีดีจากลำไส้ลูกสุกรที่มีการป่วยแก่แม่สุกร และเมื่อลูกสุกรคลอด ทำการสุ่มลูกสุกรอายุ 3 วันจากแต่ละกลุ่ม เป็นจำนวนกลุ่มละ 27 ตัว ทำการป้อนเชื้อพีอีดี สังเกตอาการลูกสุกร จากนั้นเจาะเก็บเลือดเพื่อแยกซีรั่มหลังจากป้อนเชื้อพีอีดีแล้ว 3 วัน เพื่อตรวจดูระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดี โดยวิธี Immunoperoxidase monolayer assay (IPMA) ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ รวมกลุ่มละ 81 ตัวอย่าง ผลการทดสอบพบว่าลูกสุกรกลุ่มที่ 2 มีอาการแสดงทางคลินิก และอัตราการตายน้อยกว่าลูกสุกรกลุ่มที่ 1 และมีระดับค่าภูมิคุ้มกัน (Antibody titer) ต่อเชื้อพีอีดีสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงว่าลูกสุกรได้รับภูมิคุ้มกันมาจากแม่ผ่านทางน้ำนมน้ำเหลือง โดยแม่สุกรที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปที่ผสมกับแบคทีเรียโปรไบโอติก *Enterococcus italicus* สามารถถ่ายทอดภูมิคุ้มกันผ่านทางนมน้ำเหลืองได้ดีกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปแต่เพียงอย่างเดียว

คำสำคัญ: โรคท้องร่วงติดต่อในสุกร; โปรไบโอติก; เอนเทอโรคอคคัส อีทาลิคัส; ภูมิคุ้มกัน; นมน้ำเหลือง

ABSTRACT: Porcine Epidemic Diarrhea (PED) virus infection can cause disease in pigs of all ages. The mortality rate of newborn piglets is almost 100% and in suckling piglets, the mortality rate is up to 80%. The objective of the study was to investigate the effects of supplementing probiotic *Enterococcus italicus* bacteria in pregnant sows to the immune level of suckling pigs infected with PED pathogens. A completely randomized design (CRD) was used to divided 18 first parity sows into 2 groups with 3 repetitions of 3 sows each. All were ad libitum water and feeding with commercial feeds 2 kilograms per day and the second group as the experimental group mixed with probiotics of not less than 10^6 CFU/g of food throughout the pregnancy period. Then 2 weeks before the labor, all sows were fed the PED virus from the symptomatic piglet's intestines. 27 piglets (3 days of age) were randomly assigned to

* Corresponding author: chalorsuntisaku_s@silpakorn.edu

Received: date; April 30, 2021 Accepted: date; July 30, 2021 Published: date; January 15, 2021

PED infection, observe clinical signs and collected the serum after 3 days of infection. The immunoperoxidase monolayer assay (IPMA) was examined for antibody titer with 3 replications per piglet. Results showed the second group of piglets had clinical signs and mortality rate lower than group 1 and had a significant antibody titer level against PED ($p < 0.05$). These results indicate that piglets received immune from the mother through colostrum. The sows that were given the probiotic *Enterococcus italicus* were better able to transmit protection through colostrum.

Keywords: Porcine Epidemic Diarrhea; probiotics; *Enterococcus italicus*; immunity; colostrum

บทนำ

โรคท้องร่วงติดต่อในสุกรหรือโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดี (Porcine Epidemic Diarrhea: PED) เกิดจากไวรัส Porcine Epidemic Diarrhea Virus (PEDV) เป็นไวรัส RNA ที่อยู่ในสกุล Alphacoronavirus วงศ์ Coronaviridae สามารถก่อให้เกิดโรคได้ในสุกรทุกช่วงอายุ (Tsukahara et al., 2017) โรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีเป็นโรคไวรัสที่ไม่ใช่โรคสัตว์ติดต่อสู่มนุษย์ที่เกิดขึ้นเฉพาะในสุกร (non-zoonotic viral disease of pigs) ทั้งนี้มีอาการแสดงทางคลินิก คือ ถ่ายเป็นน้ำ แสดงอาการขาดน้ำ อาเจียน สุกรจะไม่กินอาหาร โดยลูกสุกรแรกเกิดมีอัตราการตายเกือบร้อยละ 100 และในลูกสุกรดูดนมมีอัตราการตายถึงร้อยละ 80 (Inatomi et al., 2017) สุจิรา (2541) ยังกล่าวอีกว่าสุกรป่วยจะซึมและท้องร่วงลักษณะเป็นน้ำ อาการของโรคจะไม่รุนแรงในฟาร์มที่เคยมีการระบาดของโรคหรือฟาร์มที่แม่สุกรมีภูมิคุ้มต้านทานโรค และอาการของโรคจะพบป่วยรุนแรงมากกว่าโรคกระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ (Transmissible gastroenteritis: TGE) เกิดจากเชื้อไวรัสในวงศ์ Coronavirdae เช่นเดียวกัน แต่จัดอยู่ในสกุล Coronavirus โดยจะมีอาการปวดท้องร่วมด้วย

โรคติดเชื้อไวรัสพีอีดี ได้ถูกรายงานการพบโรคครั้งแรกที่ประเทศอังกฤษ ในปี พ.ศ. 2514 ก่อนจะแพร่ระบาดไปยังประเทศอื่น ๆ ในทวีปยุโรป สำหรับทวีปเอเชียเริ่มพบครั้งแรกที่ประเทศสาธารณรัฐเกาหลีและญี่ปุ่น ในช่วงปี พ.ศ. 2524 – 2526 โดยมีอัตราการป่วยและตายที่สูงกว่าในยุโรปมากการระบาดของโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีได้เกิดขึ้นเป็นระยะ จนกระทั่งหลังเกิดการระบาดซ้ำในปี พ.ศ. 2550 โรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีได้พัฒนาเป็นโรคประจำถิ่น (endemic disease) ของประเทศไทย ทั้งนี้อาการทางคลินิกในลูกสุกรดูดนม คือ ซึม อ่อนแรง มีไข้ ถ่ายเหลวมีกลิ่นคาว อาเจียนมีลิ่มนม ภาวะแห้งน้ำ และตาย (สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย, 2558) ทั้งนี้การวินิจฉัยโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีได้จากการสังเกตจากอาการและประวัติ การตรวจซากลำไส้ขยายใหญ่ ซึ่งจะพบของเหลวสีเหลืองภายในการตรวจทางจุลพยาธิวิทยาวิลไลของลำไส้เล็กซึ่งจะพบว่ามีการหดสั้นลง แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในลำไส้ใหญ่ การตรวจแอนติเจนโดยใช้วิธี immunofluorescence ELISA และ immunoelectron microscopy การแยกเชื้อไวรัสโดยใช้อุจจาระและลำไส้เล็กของสุกรป่วยเพาะเลี้ยงในเซลล์เพาะเลี้ยง (Vero cell) การสังเกตการเปลี่ยนแปลงของเซลล์เพาะเลี้ยง (cytopathogenic) และการทดสอบทางซีรั่มโดยใช้วิธี ELISA หรือ serum neutralization

อย่างไรก็ตามสภาพการณ์จากโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีในฝูงสุกรมักจะเกิดขึ้นซ้ำ ๆ เนื่องจากปัจจัยหลายประการ อาทิเช่น ปัจจัยจากพันธุกรรมของเชื้อไวรัส เนื่องจากเชื้อไวรัสพีอีดีเป็นชนิดอาร์เอ็นเอไวรัสสายเดี่ยวที่ยีนของไวรัสจะมีการเปลี่ยนแปลงพันธุกรรมตามธรรมชาติ ก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ในแต่ละรอบของการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมในระดับการเรียงลำดับของกรดอะมิโนในส่วนของยีน ซึ่งเกิดขึ้นได้เองหรือเกิดจากอิทธิพลอื่นก็ได้ ส่งผลให้ความรุนแรงของเชื้อไวรัสแต่ละชนิดย่อยแตกต่างกันในแต่ละฟาร์มและส่งผลต่อประสิทธิภาพการทำวัคซีนหรือการเลือกชนิดวัคซีนที่ใช้ นอกจากนี้ยังมีปัจจัยการเตรียมสุกรสาวทดแทน ถ้าสุกรสาวทดแทนไม่เคยได้สัมผัสเชื้อมาก่อน จากการติดเชื้อจากธรรมชาติหรือการได้รับการฉีดวัคซีน จะส่งผลให้ลูกสุกรดูดนมป่วยได้ ดังนั้นการจัดการระดับภูมิคุ้มกันในตัวแม่พันธุ์สุกร หรือระดับภูมิคุ้มกันในระดับฝูงแม่พันธุ์ให้เสถียร ตลอดจนวิธีการได้ถ่ายทอดภูมิคุ้มกันสู่ลูกสุกรแรกคลอด จะสามารถป้องกันการก่อโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีได้ การส่งเสริมให้ลูกสุกรได้รับภูมิคุ้มกันโดยการถ่ายทอดมาจากแม่สุกรในปริมาณที่เพียงพอจะสามารถคุ้มโรคได้

สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย (2558) แนะนำให้สร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีระดับฝูงโดยเร็วผ่านการกินลำไส้ที่ติดเชื้อ (Intestinal feedback) โดยการป้อนลำไส้ลูกสุกรที่แสดงอาการติดเชื้อไวรัสพีอีดีให้กับแม่สุกรทั้งหมดในฝูง เช่นเดียวกับสุพล (2558) ที่แนะนำให้ใช้วิธีการป้อนลำไส้ที่ติดเชื้อให้กับแม่สุกร โดยควรได้เลือกใช้เชื้อประจำถิ่น (endemic strain) ของฝูงตนเอง โดยเตรียมขึ้นมาจากลูกสุกรดูดนมป่วยแสดงอาการชัดเจนขณะนั้น โดยให้กับแม่สุกรอุ้มท้อง ตั้งแต่ระยะการอุ้มท้องที่ 8-14 สัปดาห์ หรือให้

หมดทุกตัวในฝูงพร้อมกันไปในคราวเดียว เพื่อให้เกิดภูมิคุ้มกันที่ถ่ายทอดไปยังลูกสุกร แต่อย่างไรก็ตามลักษณะของรกสุกร เป็นแบบ epitheliochorial Placenta ซึ่งทำให้ภูมิคุ้มกันไม่สามารถถ่ายทอดสู่ลูกผ่านทางรกได้ จำเป็นต้องให้ลูกสุกรดูดนมน้ำเหลืองเพื่อให้ได้รับภูมิคุ้มกันจากแม่สู่ลูก โรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีทำให้เกิดการเสื่อมและตายของเซลล์เยื่อบุลำไส้ที่มีการติดเชื้อ ส่งผลให้เกิดการหดสั้นลงของวิลไลของลำไส้ทำให้ความสามารถในการดูดซึมสารอาหารลดลง และเซลล์เยื่อบุลำไส้ที่เสียหายก็ทำหน้าที่ในการย่อยอาหารเสียไป

ระบบภูมิคุ้มกันประกอบด้วยอวัยวะและเซลล์หลายชนิด ปฏิสัมพันธ์ของแอนติเจนกับเซลล์เหล่านี้ก่อให้เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวชนิดลิมโฟไซต์ (Lymphocyte) จะได้รับการกระตุ้นและเกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันโดยการผลิตแอนติบอดีที่จำเพาะกับแอนติเจน มีการศึกษาเปรียบเทียบสัตว์ทดลองที่เลี้ยงในที่ปราศจากเชื้อโรค (germ- free animals) กับสัตว์ทดลองทั่วไป (conventional animal) พบว่าสัตว์ที่เลี้ยงในที่ปราศจากเชื้อโรคมีการพัฒนาต่อมน้ำเหลือง (lymphoid tissues) การพัฒนาเซลล์สำหรับการผลิตอิมมูโนโกลบูลิน (Immunoglobulin) ชนิด A (IgA antibody-secreting cells) และเซลล์เม็ดเลือดขาวในเยื่อบุลำไส้ น้อยกว่า รวมทั้งมีระดับของอิมมูโนโกลบูลิน ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสัตว์ทั่วไป แต่หลังจากสัตว์ที่ปราศจากเชื้อโรคได้รับการฉีดวัคซีนด้วยจุลินทรีย์ที่กำหนด (เช่น ไวรัส) ก็จะเกิดการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน

สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย (2558) กล่าวว่าหลังจากติดเชื้อโรคพีอีดี จะพบภูมิคุ้มกันที่บริเวณเยื่อเมือก (mucosal immunity) โดยเซลล์ลิมโฟไซต์จะผลิตแอนติบอดี ชนิด IgA ที่บริเวณลำไส้เพิ่มขึ้น ตั้งแต่วันที่ 4 หลังจากติดเชื้อ และมากที่สุดในวันที่ 21 หลังการติดเชื้อ โดยในกระแสเลือดจะมีแอนติบอดีชนิด IgG และ IgA เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน

แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic Acid Bacterial**)** หรือ โปรไบโอติกส์ (Probiotics) จะช่วยส่งเสริมการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันในลำไส้ได้ (Perdigon et al.,1995) เชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ *Enterococcus italicus* (จารุณี และคณะ, 2554) เป็นเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ที่แยกได้จากช่องจมูกลูกสุกร แม้การให้จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ *Enterococcus italicus* ไม่ส่งผลต่ออัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยต่อตัวต่อวัน (Average daily gain) แต่ส่งผลต่ออัตราการกินได้ (Feed Intake) และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio) และกลุ่มการทดลองที่ได้รับ *Enterococcus italicus* มีระดับภูมิคุ้มกันสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อได้รับการกระตุ้นวัคซีน Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome (PRRS) ครั้งที่ 2 ไปแล้ว 7 วัน (Kasornpikul and Chalorsuatisakul**.** 2016) ซึ่งแสดงว่า *Enterococcus italicus* สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสุกรได้ จึงเป็นสมมติฐานว่าหากทำการป้อน *Enterococcus italicus* ให้กับแม่สุกรก่อนการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีผ่านการกินลำไส้ที่ติดเชื้อจะทำให้เกิดการเพิ่มระดับภูมิคุ้มกันของแม่สุกร และแม่สุกรจะสามารถส่งภูมิคุ้มกันนี้ผ่านทางนมน้ำเหลืองไปสู่ลูกสุกรได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของการเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ *Enterococcus italicus* ในแม่สุกรตั้งท้องต่อระดับภูมิคุ้มกันของลูกสุกรดูดนมที่ติดเชื้อโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดี

วิธีการศึกษา

แบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ได้แก่

1. ขั้นตอนการเตรียมเชื้อ

นำจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ *Enterococcus italicus* มาเพาะขยายเพิ่มจำนวนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Man Rogasa and Shape (MRS broth) ให้เพียงพอต่อการใช้งาน จากนั้นนำมาปั่นตกตะกอนด้วย เครื่องหมุนปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) ละลายตะกอนด้วยน้ำเกลือ NaCl 0.1% ที่ฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นทำการนับจำนวนเชื้อเพื่อนำมาผสมกับอาหารสำหรับการเลี้ยงสุกร โดยผสมเชื้อโปรไบโอติกส์ลงในอาหารสุกรทุกวัน

2. ขั้นตอนการทดสอบ วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) โดยนำแม่สุกรท้องแรก จำนวน 18 ตัว เข้าคอกพักสัตว์ทดลองในคอกรวม เป็นเวลา 14 วัน หลังจากนั้นทำการแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 3 ตัว โดยมีพื้นที่คอก 1.5 ตารางเมตรต่อตัว โดยให้อาหารสำเร็จรูปวันละ 2 กิโลกรัม แบ่งให้ 2 เวลา เช้า 9.00 น. และเย็น 17.00 น. และให้น้ำแบบกินได้เต็มที่ตลอดเวลา จากนั้นทำการแบ่งกลุ่มทดลอง ดังนี้ คือ

กลุ่มที่ 1 กลุ่มควบคุม เลี้ยงโดยให้อาหารสำเร็จรูป โดยให้อาหารสำหรับแม่สุกรแม่พันธุ์ระยะอุ้มท้อง ในระหว่างตั้งท้อง และให้อาหารสำเร็จรูปแม่สุกรพันธุ์ระยะให้นม ตั้งแต่คลอดเป็นต้นไป

กลุ่มที่ 2 กลุ่มทดลอง ให้อาหารสำเร็จรูปยี่ห้อและปริมาณเดียวกับกลุ่มที่ 1 และเติมโปรไบโอติกส์ *Enterococcus italicus* (Top up) จำนวน 10^6 CFU/g ของอาหาร ตลอดระยะเวลาเลี้ยง ทั้งช่วงตั้งท้อง ช่วงคลอด และช่วงระยะให้นม

อาหารสัตว์ทดลอง

อาหารสำเร็จรูปที่ใช้เลี้ยงแม่สุกร มีคุณค่าทางโภชนะ ดังนี้

1. อาหารสำเร็จรูปสำหรับแม่สุกรแม่พันธุ์ระยะอุ้มท้อง ยี่ห้อ บาลานส์ 956 ผลิตโดย บริษัท เบทาโกร จำกัด
   - โปรตีน ไม่น้อยกว่า ร้อยละ 14
   - ไขมัน ไม่น้อยกว่า ร้อยละ 3
   - กาก ไม่น้อยกว่า ร้อยละ 10
   - ความชื้น ไม่มากกว่า ร้อยละ 13
2. อาหารสำเร็จรูปสำหรับแม่สุกรพันธุ์ระยะให้นม บาลานส์ 957 ผลิตโดย บริษัท เบทาโกร จำกัด
   - โปรตีน ไม่น้อยกว่า ร้อยละ 16
   - ไขมัน ไม่น้อยกว่า ร้อยละ 3
   - กาก ไม่น้อยกว่า ร้อยละ 10
   - ความชื้น ไม่มากกว่า ร้อยละ 13

ก่อนถึงกำหนดคลอด 2 สัปดาห์ ทำการป้อนเชื้อไวรัสพีอีดีจากลำไส้ลูกสุกรที่มีอาการของโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดี ซึ่งได้รับอนุเคราะห์จากหน่วยชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แก่แม่สุกรทั้ง 2 กลุ่มการทดลอง และเมื่อแม่สุกรคลอดแล้ว บันทึกข้อมูล น้ำหนักแรกเกิด และ ขนาดครอกของสุกร และให้ลูกสุกรดูดนมน้ำเหลืองทันทีเป็นระยะเวลา 3 วัน

ทำการสุ่มลูกสุกรจากแม่สุกรแต่ละตัว จำนวน 3 ตัว จากแม่สุกรทั้ง 9 ตัวของกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลอง รวมกลุ่มละ 27 ตัว ให้เชื้อไวรัสพีอีดีกับลูกสุกร สังเกตอาการลูกสุกร โดยอาการของโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีที่สังเกตมีดังนี้ คือ ซึมหรืออ่อนแรง อาเจียน ถ่ายเหลวแห้งน้ำ และตาย

หลังจากให้เชื้อแล้ว 3 วัน ทำการเจาะเก็บเลือดเพื่อนำมาปั่นแยกซีรั่ม เพื่อวัดระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดี โดยวิธี Immunoperoxidase monolayer assay (IPMA) โดยตรวจตัวอย่างละ 3 ครั้ง รวม 81 ตัวอย่างจากแต่ละกลุ่มทดลอง รวมทั้งสิ้น 162 ตัวอย่าง

3. ขั้นตอนการตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอีดีโดยวิธี Immunoperoxidase monolayer assay (IPMA)

การตรวจหาแอนติบอดีด้วยวิธี IPMA เป็นการย้อมสีไวรัสภายในเซลล์เพาะเลี้ยง หลักการของวิธี IPMA คือ หากมีเชื้ออยู่ภายในเซลล์เพาะเลี้ยง สามารถตรวจหาเชื้อภายในเซลล์ได้ การตรวจแอนติบอดีที่จำเพาะต่อเชื้อด้วยวิธี IPMA ทำได้โดยการบ่มเซลล์เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ PEDV เพื่อให้ไวรัสเข้าสู่เซลล์ จากนั้นใส่ตัวอย่าง serum สุกรที่ต้องการตรวจหาแอนติบอดีลงไป โดยหากใน serum มีแอนติบอดีที่จำเพาะ แอนติบอดีจะจับกับแอนติเจนของไวรัส จากนั้นใส่แอนติบอดีลำดับที่ 2 ที่มีความจำเพาะกับแอนติบอดีของสุกร โดยแอนติบอดีลำดับที่ 2 นี้จะติดเอนไซม์ ซึ่งเมื่อใส่สารตั้งต้นจะเกิดปฏิกิริยาเป็นตะกอนสี และสามารถตรวจสอบได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์

วิธีการตรวจ Immunoperoxidase monolayer assay

ทำการเตรียมเซลล์เพาะเลี้ยง (Cell line) MARC-145 ในไมโครเพลตชนิดก้นเรียบ ปริมาตร 100 µl/well เลี้ยงในอาหาร RPMI 1640 ผสม FBS ร้อยละ 5 และ Penicillin 10,000 U/ml และ Fungizone 250 mg/ml บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในตู้บ่มที่มี CO_2 5% 24 ชั่วโมง ใส่เชื้อ PEDV ลงในเซลล์เพาะเลี้ยง 50 µl/well และ 2 หลุมเป็นกลุ่มควบคุม บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในตู้บ่มที่มี CO_2 5% 24 ชั่วโมง ทำการตรึงเซลล์โดยการทำให้แห้งโดยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และเติมสารละลายพารา

ฟอร์มาลดีไฮด์ที่อุณหภูมิต่ำ ในสารละลาย PBS ความเข้มข้นร้อยละ 4 ทิ้งไว้ 10 นาทีและล้างออก หลังจากนั้นใช้สารละลายบัฟเฟอร์เจือจาง (dilution buffer) (NaCl 0.5 Molar, Horse serum 4%, Tween 80 0.5%) มาทำการเจือจางตัวอย่างซีรั่มสุกรในแต่ละหลุมให้ได้ซีรั่มเจือจาง 1:10, 1:40, 1: 160 และ 1:640 เท่า ตามลำดับ นำตัวอย่างซีรั่มที่เจือจางแล้วใส่ลงในเซลล์เพาะเลี้ยง ปริมาตร 50 µl/well นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นล้างเซลล์ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ (NaCl 0.15 M และ 0.5%Tween 80) จากนั้นใช้ Rabbit Anti-Swine IgG HRPO conjugate ปริมาตร 50 µl/well นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นล้างเซลล์ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ นำมาใส่สารละลายโครโมเจนและสารตั้งต้น Peroxidase substrate ปริมาตร 50 µl/well สังเกตการติดสี

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

บันทึกน้ำหนักแรกเกิด ขนาดครอกของสุกร จำนวนตัวที่มีอาการแสดง และระดับภูมิคุ้มกัน และนำข้อมูลมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติโดยใช้วิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One Way ANOVA – Single factor) โดยโปรแกรม add in application for Microsoft Excel®

สถานที่ทำการวิจัย

1 ฟาร์มเกษตรกรผู้เลี้ยงสุกร ตำบลสามพระยา อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี

2. คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

เดือนมีนาคม 2562 – เดือนธันวาคม 2563

โครงการวิจัยนี้ได้ผ่านการพิจารณาของคณะกรรมการกำกับการดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร ลำดับที่ Asat.SU 023/2562

ผลการศึกษา

เมื่อแม่สุกรคลอด บันทึกข้อมูล น้ำหนักแรกเกิด และ ขนาดครอกของสุกร โดยพบว่า น้ำหนักแรกเกิดเฉลี่ยของลูกสุกรของแม่สุกรกลุ่มที่ 1 ที่ไม่ได้รับโปรไบโอติกส์ *Enterococcus italicus* คือ 0.85 $\pm$ 0.07 กิโลกรัม น้ำหนักแรกเกิดต่ำสุด คือ 0.4 กิโลกรัม และน้ำหนักมากที่สุด คือ 1.8 กิโลกรัม

น้ำหนักแรกเกิดเฉลี่ยของลูกสุกรของแม่สุกรกลุ่มที่ 2 ที่ได้รับโปรไบโอติกส์ *Enterococcus italicus* คือ 0.91 $\pm$ 0.08 กิโลกรัม น้ำหนักแรกเกิดต่ำสุด คือ 0.5 กิโลกรัม และ น้ำหนักมากที่สุด คือ 1.8 กิโลกรัม

สำหรับขนาดครอกของสุกร มีจำนวนลูกสุกรแรกเกิดของแม่สุกรในกลุ่มที่ 1 ที่ไม่ได้รับโปรไบโอติกส์ *Enterococcus italicus* ทั้งหมดเฉลี่ย 11.22 $\pm$ 2.16 ตัวต่อแม่สุกร มีค่าน้อยที่สุด 8 ตัวต่อแม่สุกร และมากที่สุด 15 ตัวต่อแม่สุกร

จำนวนลูกสุกรแรกเกิดของแม่สุกรในกลุ่มที่ 2 ที่ได้รับโปรไบโอติกส์ *Enterococcus italicus* มีค่าเฉลี่ย 11.44 $\pm$ 2.01 ตัวต่อแม่สุกร มีค่าน้อยที่สุด 9 ตัวต่อแม่สุกร และมากที่สุด 15 ตัวต่อแม่สุกร

โดยน้ำหนักแรกเกิดเฉลี่ย และขนาดครอกของสุกร ของทั้งสองกลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงใน **Table 1**

Table 1 Mean litter weight at birth and litter size of sow

Traits/Group	Control	Probiotics
litter weight at birth (kg.)	0.85 $\pm$ 0.07	0.91$\pm$ 0.08
litter size (pigs)	11.22 $\pm$ 2.16	11.44 $\pm$ 2.01

เมื่อลูกสุกรคลอด ให้ลูกสุกรดูดนมน้ำเหลืองทันทีเป็นระยะเวลา 3 วัน ก่อนทำการสุ่มลูกสุกรจากแม่สุกรแต่ละตัว จำนวน 3 ตัว จากแม่สุกรทั้ง 9 ตัวของกลุ่มควบคุม และกลุ่มทดลอง รวมกลุ่มละ 27 ตัว ให้เชื้อไวรัสพีอีดีกับลูกสุกร และสังเกตอาการทางคลินิกของโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีในลูกสุกร โดยสังเกตอาการแสดงดังนี้ คือ ซึมหรืออ่อนแรง อาเจียน ถ่ายเหลว แห้งน้ำ และตาย จากลูกสุกรทั้ง 2 กลุ่ม

กลุ่มที่ 1 ลูกสุกรในกลุ่มควบคุมซึ่งแม่สุกรไม่ได้รับโปรไบโอติกส์ *Enterococcus italicus* แสดงอาการของโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดี ได้แก่ แสดงอาการซึม จำนวน 27 ตัว คิดเป็นร้อยละ 100 แสดงอาการอาเจียน จำนวน 20 ตัว คิดเป็นร้อยละ 74.04 แสดงอาการถ่ายเหลว จำนวน 25 ตัว คิดเป็นร้อยละ 92.59 และ แสดงอาการแห้งน้ำ จำนวน 25 ตัว คิดเป็นร้อยละ 92.59

กลุ่มที่ 2 ที่แม่สุกรได้รับโปรไบโอติกส์ *Enterococcus italicus* แสดงอาการของโรค ได้แก่ แสดงอาการซึม จำนวน 25 ตัว คิดเป็นร้อยละ 92.59 แสดงอาการอาเจียน จำนวน 15 ตัว คิดเป็นร้อยละ 55.55 แสดงอาการถ่ายเหลว จำนวน 20 ตัว คิดเป็นร้อยละ 74.04 และ แสดงอาการแห้งน้ำ จำนวน 20 ตัว คิดเป็นร้อยละ 74.07

ลูกสุกรในกลุ่มที่ 1 ตาย 12 ตัว คิดเป็นอัตราการตาย ร้อยละ 44.44 และลูกสุกรในกลุ่มที่ 2 ตาย 5 ตัว คิดเป็นอัตราการตาย 18.52%

ซึ่งทั้งอาการแสดงทางคลินิก และอัตราการตายของลูกสุกรในกลุ่มที่ 1 มากกว่าลูกสุกรในกลุ่มที่ 2 ดังแสดงใน **Table 2**

Table 2 Clinical Sign of PED disease of piglets after receive PEDV

Group	No. of Samples	Clinical sign				
		Depression	Vomit	Diarrhea	Dehydration	Death
Control	27	27 (100%)	20 (74.04%)	25 (92.59%)	25 (92.59%)	12 (44.44%)
Probiotics	27	25 (92.59%)	15 (55.55%)	20 (74.07%)	20 (74.07%)	5 (18.52%)

จากการเจาะเก็บเลือด และนำซีรั่มตรวจหาระดับภูมิคุ้มกันโดยวิธี IPMA พบว่าตัวอย่างของกลุ่มที่ 1 ที่ได้จากลูกสุกรในกลุ่มควบคุมซึ่งแม่สุกรไม่ได้รับโปรไบโอติกส์ *Enterococcus italicus* มีระดับภูมิคุ้มกันชนิด IgG อยู่ในระดับ 1:10 จำนวน 38 ตัวอย่าง และ 1:40 จำนวน 38 ตัวอย่าง เท่า ๆ กัน ในขณะที่มีระดับภูมิคุ้มกันชนิด IgG อยู่ในระดับ 1: 160 เพียง 5 ตัวอย่าง จึงมีมีระดับภูมิคุ้มกันชนิด IgG เฉลี่ยเป็นบวกต่อโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดี 1:33.33

สำหรับตัวอย่างจากกลุ่มที่ 2 ที่ได้จากลูกสุกรที่แม่สุกรได้รับโปรไบโอติกส์ *Enterococcus italicus* มีระดับภูมิคุ้มกันชนิด IgG อยู่ในระดับ 1:10 จำนวน 32 ตัวอย่าง และ 1:40 จำนวน 26 ตัวอย่าง และมีระดับภูมิคุ้มกันชนิด IgG อยู่ในระดับ 1: 160 จำนวน 23 ตัวอย่าง จึงมีระดับภูมิคุ้มกันชนิด IgG เฉลี่ยเป็นบวกต่อโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดี 1:62.22

ซึ่งระดับภูมิคุ้มกันชนิด IgG เฉลี่ยเป็นบวกต่อโรค พีอีดี ของกลุ่มที่ 1 น้อยกว่ากลุ่มที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังแสดงใน **Table 3**

Table 3 Average Immunity titer to PEDV of piglet's serum sample (81 piglets with 3 replications each group)

Group	Samples	Immunity titer to PEDV				GMT of Immunity Titer
		1:10	1:40	1:160	1:640	
Control	81	4.22 $\pm$ 0.97	4.22 $\pm$ 0.97	0.56 $\pm$ 0.73	-	1:33.33[a]
Probiotics	81	3.56 $\pm$ 1.33	2.89 $\pm$ 1.05	2.56 $\pm$1.59	-	1:62.22[b]

[a, b] Values within a row with different superscripts differ (P<0.05)

วิจารณ์และสรุป

สุกรแต่ละครอกมีน้ำหนักแตกต่างกันตั้งแต่น้อยกว่า 1 กิโลกรัม และมากกว่า 15 กิโลกรัม น้ำหนักแรกเกิดของสุกรอาจมีผลมาจากพันธุ์ สภาพแวดล้อม และโภชนาการที่แม่สุกรได้รับ ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงใช้แม่สุกรท้องแรกทั้งหมดและให้อาหารที่มีโภชนาการเหมือนกัน ในปริมาณเท่ากัน เพื่อควบคุมความแปรปรวนที่อาจเกิดขึ้น

โรคพีอีดีมีรายงานว่าเป็นสาเหตุที่ทำให้น้ำหนักตัวแรกเกิดของลูกสุกรลดลง (Olanratmanee et al., 2010) โดย Tsukahara et al. (2017) พบว่าลูกสุกรที่คลอดโดยแม่สุกรที่เสริมด้วยโปรไบโอติกส์มีเปอร์เซ็นต์การตายต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญและมีแนวโน้มที่จะมีน้ำหนักตัวเมื่อแรกเกิดมากกว่าสุกรที่ไม่ได้รับการเสริมด้วยโปรไบโอติกส์ แต่จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า น้ำหนักตัวเมื่อแรกเกิด และขนาดครอกของสุกรทั้ง 2 กลุ่มไม่แตกต่างกันทางสถิติ

โรคพีอีดีจะพบอัตราการตายสูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ในสุกรดูดนมที่อายุต่ำกว่า 1 สัปดาห์ โดยแสดงอาการทางคลินิกที่ชัดเจน คือ ซึมหรืออ่อนแรง อาเจียนเป็นลิ่มนม ถ่ายเหลวอย่างรุนแรง ส่งผลให้ลูกสุกรแห้งน้ำ และตาย (สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย , 2558) รอยโรคทางจุลพยาธิวิทยาโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีจะก่อให้เกิดความเสียหายของเยื่อบุลำไส้เล็ก โดยเฉพาะส่วนกลางและส่วนปลาย โดยลักษณะรอยโรคที่สำคัญจะเป็นการอักเสบแบบหดสั้นลงของวิลไลของลำไส้เล็ก (atrophic enteritis) โดยเริ่มมีการหดสั้นลงของวิลไลตั้งแต่ 24 ชั่วโมงหลังการติดเชื้อ (ศูนย์การศึกษาต่อเนื่องทางสัตวแพทย์, 2557) โดยจากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า อาการแสดงทางคลินิกของลูกสุกรดูดนมในกลุ่มที่ 2 ที่เกิดจากแม่สุกรที่ได้รับจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์มีอาการแสดงและอัตราการตายน้อยกว่าลูกสุกรในกลุ่มที่ 1

สมมติฐานของการใช้โปรไบโอติกส์ว่าสามารถลดอาการทางคลินิกของโรคพีอีดีได้ มีการทดลองใช้แบคทีเรียโปรไบโอติกส์กับโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดี อาทิ วันดี (2559) ที่พบว่า เชื้อเป็นของ *Lactobacillus plantarum* 25F มีความสามารถในการต่อต้านเชื้อจุลชีพก่อโรคและไวรัสพีอีดีได้ดี และ Oh et al. (2008) ได้ทำการทดลองหาประสิทธิภาพของ *Lactobacillus reuteri* ต่อ โรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีในสุกรดูดนม โดยให้ *Lactobacillus reuteri* ในลูกสุกรอายุ 1 วันเป็นเวลา 3 วัน ก่อนให้เชื้อไวรัสพีอีดี พบว่าสามารถช่วยลดอาการท้องเสียและอัตราการตายอันเกิดจากโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีในลูกสุกรดูดนมได้

การทำงานของโปรไบโอติกส์ โดย Kritas and Morrison (2005) กล่าวว่า โปรไบโอติกส์สามารถแข่งขันกับเชื้อก่อโรคในการแย่งจับพื้นที่บนลำไส้ และช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน ทำให้สัตว์สามารถต้านทางการติดเชื้อได้ อย่างไรก็ตามในการทดลองนี้ไม่ได้เก็บข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการแย่งจับพื้นที่บนลำไส้ของแม่สุกร แต่วัดเฉพาะระดับของภูมิคุ้มกันในลูกสุกรเท่านั้น

Song and Park (2012) ได้อธิบายถึงภูมิคุ้มกันของแม่สุกรที่ได้รับการฉีดวัคซีนว่าสามารถถ่ายทอดภูมิคุ้มกันให้กับลูกสุกรที่ดูดนมผ่านน้ำนมน้ำเหลืองและน้ำนม ซึ่งการศึกษาการเสริมโปรไบโอติกส์ให้กับแม่สุกรช่วยเพิ่มปริมาณของ IgA และ IgG ในน้ำนมได้อย่างมีนัยสำคัญแม้ว่าจะไม่ได้รับการฉีดวัคซีนก็ตาม นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าโปรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* ที่เสริมให้กับสุกรส่งผลให้มีการผลิตแอนติบอดี เช่น IgA, IgG และ IgM เพิ่มขึ้น (Zhang et al., 2008)

การจัดการระดับภูมิคุ้มกันในตัวแม่พันธุ์สุกร หรือระดับภูมิคุ้มกันในระดับฝูงแม่พันธุ์ ตลอดจนวิธีการได้ถ่ายทอดภูมิคุ้มกันสู่ลูกสุกรแรกคลอด จะสามารถป้องกันการก่อโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีได้ดีกว่า ดังนั้นหากให้ลูกสุกรได้รับภูมิคุ้มกันโดยการถ่ายทอดมาจากแม่สุกรในปริมาณที่เพียงพอจะสามารถช่วยป้องกันการเกิดโรคได้ โดยลูกสุกรที่มีอายุ 4 ถึง 13 วัน ลูกสุกรจะได้รับภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอีดีโดยแอนติบอดี ชนิด IgG เฉพาะจากน้ำนมเหลืองและน้ำนมของแม่สุกรที่มีภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอีดีอยู่ ซึ่งภูมิคุ้มกันนี้จะคงอยู่ได้นานขึ้นกับระดับภูมิคุ้มกันจากแม่ (De Arriba et al., 1995) กล่าวคือ ถ้าแม่สุกรมีระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอีดีสูง ลูกสุกรจะได้รับภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอีดีในปริมาณมากและได้รับนานกว่าแม่สุกรที่มีระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอีดีน้อย หรือไม่มีเลย นอกจากนี้ Secretory IgA ในน้ำนมยังจะช่วยป้องกันเชื้อโรคในลำไส้ของลูกสุกรขณะอยู่ในระยะอนุบาลด้วย (Oh et al., 2008) ซึ่งนมน้ำเหลืองของสุกรจะประกอบด้วย Immunoglobulin G (IgG) 92 mg/ml 85 mg/ml 18.3 mg/ml เมื่อเวลาผ่านไป 3, 6 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ และ Immunoglobulin A (IgA) 11 mg/ml 8.1 mg/ml และ 2.8 mg/ml เมื่อเวลาผ่านไป 3, 6 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ (Decaluwe et al., 2014)

จากผลการศึกษาในครั้งนี้ พบว่าลูกสุกรที่มาจากแม่สุกรที่ได้รับโปรไบโอติกส์มีอาการแสดงทางคลินิก และอัตราการตายน้อยกว่ากลุ่มลูกสุกรที่มาจากแม่สุกรที่ไม่ได้รับโปรไบโอติกส์ นอกจากนี้ยังพบว่ากลุ่มลูกสุกรจากแม่ที่ได้รับโปรไบโอติกส์มีระดับ Antibody titer ต่อเชื้อพีอีดีสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งแสดงว่าแม่สุกรที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกส์มีระดับภูมิคุ้มกันต่อโรคพีอีดีสูงกว่า จึงสามารถถ่ายทอดภูมิคุ้มกันสู่ลูกผ่านทางนมน้ำเหลืองได้ดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้เสริมด้วยโปรไบโอติกส์ ดังที่ได้กล่าวแล้วว่าเนื่องจากลักษณะรกของแม่สุกรลูกสุกรเป็นแบบ epitheliochorial Placenta ซึ่งทำให้ภูมิคุ้มกันไม่สามารถถ่ายทอดสู่ลูกผ่านทางรกได้ จากผลการทดลองในครั้งนี้จึงแสดงให้เห็นว่าลูกสุกรได้รับภูมิคุ้มกันมาจากแม่ผ่านทางน้ำนมน้ำเหลือง ดังนั้นการป้อน *Enterococcus italicus* ให้กับแม่สุกรก่อนการสร้างภูมิคุ้มกันต่อโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีผ่านการกินลำไส้ที่ติดเชื้อ สามารถเพิ่มระดับภูมิคุ้มกันของแม่สุกร และสามารถส่งภูมิคุ้มกันผ่านทางนมน้ำเหลืองไปสู่ลูกสุกรได้

เมื่อเปรียบเทียบกับรายงานของ Inatomi et al. (2017) พบว่า การให้โปรไบโอติกส์แก่แม่สุกรร่วมกับการทำวัคซีนป้องกันโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีทำให้ IgA และ IgG ในน้ำนมสูงกว่าแม่สุกรที่ไม่ได้รับโปรไบโอติกส์ อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.01$) ซึ่งสอดคล้องกับระดับ Antibody titer ในซีรัมที่พบว่าแม่สุกรที่ได้รับโปรไบโอติกส์มีระดับ Antibody Titer ต่อโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีสูงกว่ากลุ่มที่ได้ไม่ได้รับโปรไบโอติกส์ ($p<0.05$)

นอกจากนี้รายงานของ Tsukahara et al. (2017) พบว่า น้ำนมของแม่สุกรที่ได้รับโปรไบโอติกส์มี IgA ปริมาณที่มากกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับโปรไบโอติกส์ ตั้งแต่แรกคลอด 3 วันหลังคลอด และ 7 วันหลังคลอด ในขณะที่ IgG ในน้ำนมมีปริมาณสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหลังคลอด ($p<0.05$) นอกจากนี้ ระดับ Antibody titer ในซีรัม และในน้ำนมของแม่สุกรที่ได้รับโปรไบโอติกส์มีระดับ Antibody Titer ต่อโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีสูงกว่ากลุ่มที่ได้ไม่ได้รับโปรไบโอติกส์ ($p<0.05$) เช่นกัน

โดยสรุป *Enterococcus italicus* เป็นแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกส์ที่แยกได้จากช่องจมูกลูกสุกร โดยจำแนกสายพันธุ์โดยใช้เทคนิคชีววิทยาโมเลกุลในการเปรียบเทียบลำดับเบสของยีน 16S rRNA เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่ผลิตเอนไซม์คาตาเลส มีความสามารถในการทนเกลือน้ำดีที่ระดับ 0.3% มีความสามารถในการย่อยแป้ง โปรตีน และไขมัน ทนต่อสภาพความเป็นกรด-ด่างที่ pH 3.0-10 มีความสามารถต้านทานต่อสารปฏิชีวนะได้ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค *Salmonella typhymurium*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* และ *Pasteurella multocida* ได้ (จารุณีและสุรวัฒน์, 2554) และจากการทดลองเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ *Enterococcus italicus* ให้กับแม่สุกรตั้งท้อง สามารถลดอาการของโรคพีอีดีในลูกสุกรดูดนมและส่งผลให้ลูกสุกรดูดนมที่ติดเชื้อไวรัสพีอีดีที่ได้รับภูมิคุ้มกันจากแม่มีระดับภูมิคุ้มกันมากกว่ากลุ่มที่แม่สุกรไม่ได้โปรไบโอติกส์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารอ้างอิง

จารุณี เกษรพิกุล และ สุรวัฒน์ ชลอสันติสกุล. 2554. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ เรื่อง การแยกเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติกส์จากช่องจมูกลูกสุกร. คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร.

วันดี ศิริโชคชัชวาล. 2559. การคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียกรดแลคติกจากสุกรเพื่อต่อต้านแบคทีเรียก่อโรคและไวรัส porcine epidemic diarrhea (PED). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ดุษฎีบัณฑิต. คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย. แนวทางการปฏิบัติงานทางคลินิกต่อปัญหาโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีในประเทศไทย ครั้ง 1: สมาคมสัตวแพทย์ควบคุมฟาร์มสุกรไทย, 2558.

ส่วนระบาดวิทยาทางสัตวแพทย์ สำนักควบคุมป้องกันและบำบัดโรคสัตว์ กรมปศุสัตว์. 2557. Porcine epidemic diarrhea (PED) แหล่งข้อมูล: http://region7.dld.go.th/DControl/Data/Disease/Pig/PED.pdf ค้นเมื่อ 30 เมษายน 2564.

สุจิรา ปาจริยานนท์. 2541. โรคท้องเสียในสุกรที่เกิดจากเชื้อไวรัส. สถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์ แหล่งข้อมูล: http://niah.dld.go.th/th/AnimalDisease/pig_diarhea.htm#viro. ค้นเมื่อ 30 เมษายน 2564.

สุพล เลื่องยศลือชากุล. 2558. วิเคราะห์สภาพการณ์ปัญหาจากโรคติดเชื้อไวรัสพีอีดีในลูกสุกรดูดนม. จุลสารโรงพยาบาลปศุสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จังหวัดนครปฐม. มกราคม - พฤษภาคม 2558. แหล่งข้อมูล: https://www.swinethailand.com/15349982/ ค้นเมื่อ 30 เมษายน 2564.

Chalorsuntisakul, S., J. Sirithunyalug, C. Chaiyasut, W. Aengwanich, T. Pewnim. 2010. Effect of synbiotics on caecal morphology and lesion score in broilers infected with *Eimeria tenella*. Avian Biology Research. 3: 187-190.

Decaluwé, R., D. Maes, B. Wuyts, A. Cools, S. Piepers, and G.P.J. Janssens. 2014. Piglets' Colostrum intake associates with daily weight gain and survival until weaning. Livestock Science 162: 185-192.

Fuller, R. 1993. Probiotic food current use and future developments. International of Food Ingredients. 3 : 23-26.

Inatomi, T., M. Amatatsu, G.A. Romero-Pérez, R. Inoue, and T. Tsukahara. 2017. Dietary Probiotic Compound Improves Reproductive Performance of Porcine Epidemic Diarrhea Virus- Infected Sows Reared in a Japanese Commercial Swine Farm under Vaccine Control Condition. Frontiers in Immunology 8: 1877.

Kasornpikul, C., C. Chaiyasut, B. Sirithanyalug, W. Aeagwanich, and T. Pewnim. 2009. Effect of the probiotic Lactobacillus plantalum CMU-FP002 on oocyst shedding by broilers inoculated with *Eimeria tenella*. Avian Biology Research. 2: 157-159.

Kasornpikul, C., and S. Chalorsuatisakul. 2016. Efficacy of isolated Probiotic Bacteria from Piglet Nostrils in Fattening Pigs. Silpakorn University Science and Technology Journal 10: 15 – 19.

Kristas, S.K., and R.B. Morrison. 2005. Evaluation of probiotics as a substitute for antibiotics in a large pig nursery. Veterinary Record. 156: 447-448.

De Arriba M.L., A. Carvajal, I. Lanza, P. Rubio, and P.C. Blanchard. 1995. Development of an ELISA for the detection for antibody isotypes against porcine epidemic diarrhoea virus (PEDV) in sow's milk. P. 222–225. Proceeding 3rd Congress of European Society for Veterinary Virology.

Olanratmanee, E.O., A. Kunavongkrit, and P. Tummaruk. 2010. Impact of porcine epidemic diarrhea virus infection at different periods of pregnancy on subsequent reproductive performance in gilts and sows. Animal Reproduction Science. 122: 42–51.

Oh Y.i, J.B. Lee, S. Y. Park, C.S. Song, I.S. Choi, Y.H. Kim, E.J. Han, J.H. Lee, K.S. Lim, C.S. Huh, S.H. Kim, S.S. Park, and S.W. Lee. 2008. In vivo evaluation of preventive effect of Lactobacillus reuteri on porcine epidemic diarrhea in suckling piglets. Korean Journal of Veterinary Research. 48: 167-174.

Perdigon, G., S. Alvarez, M. Rachid, G. Agüero, and N. Gobbato. 1995. Immune System Stimulation by Probiotics. Journal of Dairy Science. 78: 1597-1606.

Puranaveja S., P. Poolperm, P. Lertwatcharasarakul, S. Kesdangsakonwut, A. Boonsoongnern, K. Urairong, P. Kitikoon, P. Choojai, R. Kedkovid, K. Teankum, and R. Thanawongnuwech. 2009. Chinese-like Strain of Porcine Epidemic Diarrhea Virus, Thailand. Emerging Infectious Diseases. 15: 1112-1115.

Rinkinen, M., K. Jalava, E. Westermarck, S. Salminen, and A. Ouwehand. 2003. Interaction between probiotic lactic acid bacteria and canine enteric pathogens: A risk factor for intestinal *Enterococcus faecium* colonization?. Veterinary Microbiology. 92. 111-119.

Song, D., and B. Park. 2012. Porcine epidemic diarrhoea virus: a comprehensive review of molecular epidemiology, diagnosis, and vaccines. Virus Genes. 44: 167–175.

Tsukahara T., T. Inatomi, K. Otomaru, M. Amatatsu, G.A. Romero-Perez, and R. Inoue. 2018. Probiotic supplementation improves Reproductive performance of unvaccinated farmed sows infected with porcine epidemic diarrhea virus. Animal Science Journal. 89: 1144–1151.

Zhang, W., M. S. P. Azevedo, K. Wen, A. Gonzalez, L. J. Saif, G. Li, and L. Yuan. 2008. Probiotic Lactobacillus acidophilus enhances the immunogenicity of an oral rotavirus vaccine in gnotobiotic pigs. Vaccine. 26: 3655–3661.